PortoConte Ricerche

CONSORZIO 21 POLARIS

PROGETTO PILOTA

"Stabilizzazione"

Impiego di tecnologie di stabilizzazione convenzionali e innovative nella conservazione di prodotti alimentari

REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

INDICE

PROGETTO PILOTA STABILIZZAZIONE 1

INTRODUZIONE 1

1. PROVE DI TRATTAMENTO CON ALTE PRESSIONI IDROSTATICHE (HPP) 3

NOTE SULLE ALTE PRESSIONI IDROSTATICHE 3

I RICCI DI MARE 4

PARTE SPERIMENTALE 5

CONDIZIONI DI PROCESSO 5
DETERMINAZIONI FISICO-CHIMICHE 5
ANALISI MICROBIOLOGICHE 6
ANALISI SENSORIALE 6

RISULTATI 6

DETERMINAZIONI FISICO-CHIMICHE 7
CONFRONTO VISIVO TRA I CAMPIONI 7
ANALISI MICROBIOLOGICHE 7
ANALISI SENSORIALE 9

CONCLUSIONI 9

I FILETTI DI PESCE "*VACUUM SKIN*" 10

PARTE SPERIMENTALE 10

CONCLUSIONI 12

IL FORMAGGIO OVINO FRESCO 13

PARTE SPERIMENTALE 14

ANALISI MICROBIOLOGICHE 15
ANALISI SENSORIALI 16
ANALISI DI STRUTTURA 17

CONCLUSIONI 18

BIBLIOGRAFIA 19

2. IMPIEGO DI ATMOSFERE PROTETTIVE 21

NOTE SUL CONFEZIONAMENTO IN ATMOSFERA PROTETTIVA 21

CARCIOFO DI IV GAMMA 22

LAVORAZIONE INDUSTRIALE DEL CARCIOFO 22

GLI ORTAGGI DI IV GAMMA 23

PROBLEMATICHE RELATIVE ALLA PRODUZIONE DI CARCIOFO DI IV GAMMA 26
Respirazione 26
Imbrunimento enzimatico 26
Alterazione microbiologica 27
Avvizzimento e rammollimento dei tessuti 27
MATERIALI E TECNOLOGIE DI CONFEZIONAMENTO DEI VEGETALI DI IV GAMMA 28

PARTE SPERIMENTALE 30

MISURA DEI QUOZIENTI RESPIRATORI. 31
Metodo chiuso o statico 31
Metodo permeabile 31
Determinazione dei coefficienti di trasmissione del film di confezionamento 31
ANALISI MICROBIOLOGICHE 32
VALUTAZIONI SENSORIALI 32

RISULTATI 32

COEFFICIENTI RESPIRATORI DI CARCIOFO MINIMAMENTE TRATTATO E SCELTA DEL PACKAGING 32
ANDAMENTO DELLE CONCENTRAZIONI DI GAS ALL'INTERNO DELLE CONFEZIONI 33
ANALISI MICROBIOLOGICHE 36
VALUTAZIONI SENSORIALI 37

CARCIOFO V GAMMA 38

CONCLUSIONI 41

I RAVIOLI 43

ANALISI CHIMICO-FISICHE E MICROBIOLOGICHE 43

PARTE SPERIMENTALE 44

ANALISI DELLE FASI DI LAVORAZIONE 44
ANALISI DEI PRODOTTI FINITI CONFEZIONATI IN ATMOSFERA ORDINARIA 45
ANALISI DEI PRODOTTI FINITI CONFEZIONATI IN ATMOSFERA MODIFICATA 47

SECONDA PARTE: INTERVENTI SUL PRODOTTO 51

PARTE SPERIMENTALE 51

RISULTATI 51

ANALISI DEI PRODOTTI FINITI CONFEZIONATI IN ATMOSFERA ORDINARIA 52
ANALISI DEI PRODOTTI FINITI CONFEZIONATI IN ATMOSFERA MODIFICATA 54

CONCLUSIONI 56

I SALUMI AFFETTATI 57

PARTE SPERIMENTALE 58

RISULTATI E DISCUSSIONE 58

MISURA MISCELE DI GAS 58
ANALISI CHIMICO-FISICHE 59
ANALISI DI STRUTTURA 59
MISURE COLORIMETRICHE 60

DISCUSSIONE 60

SECONDA PARTE: INTERVENTI SUL PRODOTTO 61

CAMPIONI 61
ANALISI 61

RISULTATI 61

ANALISI MISCELE DI GAS 61
ANALISI CHIMICO-FISICHE 61
ANALISI DI STRUTTURA 62
ANALISI COLORIMETRICHE 62

CONCLUSIONI 62

BIBLIOGRAFIA 64

3. IMPIEGO COMBINATO DI OSTACOLI ALLO SVILUPPO DEI MICRORGANISMI 66

INSALATA DI MARE 67

PARTE SPERIMENTALE 67

CURVE DI RESISTIVITÀ INSALATA DI MARE 73
ANALISI MICROBIOLOGICHE 74

CONCLUSIONI 74

PRODOTTI ITTICI AFFUMICATI 75

FASI DELLA LAVORAZIONE "HOT SMOKING" 77
Salagione. 77
Asciugatura superficiale. 77
Affumicatura. 77
Asciugatura. 77
Raffreddamento. 78

BIBLIOGRAFIA 79

4. TRATTAMENTI TERMICI CONVENZIONALI 80

NOTE SULLA STABILIZZAZIONE TERMICA 80

PIATTI PRONTI A PROLUNGATA SHELF LIFE A TEMPERATURA AMBIENTE 83

PARTE SPERIMENTALE. 83

PROVE DI RISCALDAMENTO CON TUNNEL A MICROONDE-VAPORE SATURO 83
PROVE IN AUTOCLAVE PILOTA 85
PROVE PRELIMINARI CON RISO E BRODO DI DADO 86
PROVE DI TRATTAMENTO DEI SINGOLI PRODOTTI. 87

DISCUSSIONE 91

PROVE IN AUTOCLAVE INDUSTRIALE. 92

CONCLUSIONI 93

CONSERVE VEGATALI SOTT'OLIO 94

PARTE SPERIMENTALE 94

CONCLUSIONI 97

BIBLIOGRAFIA 97

GRUPPO DI LAVORO 97

PROGETTO PILOTA STABILIZZAZIONE

Introduzione

La presente relazione si inquadra nell'ambito delle attività previste dal Piano Operativo relativo al progetto pilota denominato "Stabilizzazione", finalizzato al trasferimento tecnologico verso imprese di produzione e trasformazione di alimenti di origine vegetale e animale della regione Sardegna.

La relazione ha lo scopo di evidenziare le problematiche emerse nel corso della sperimentazione e di informare le aziende sui risultati ottenuti.

Per effettuare la conservazione dei prodotti alimentari è necessario ottenerne la stabilizzazione sia dal punto di vista microbiologico che enzimatico in modo da ottenere alimenti con prolungata *shelf life.* Le richieste attuali dei consumatori sono orientate verso prodotti di rapido impiego, facili da conservare, con una adeguata *shelf life*, con caratteristiche complessive di sicurezza, freschezza ed elevato valore nutrizionale. I processi di conservazione che vengono utilizzati tentano quindi di cogliere due obiettivi; la sicurezza microbiologica e la salvaguardia delle caratteristiche sensoriali degli alimenti. A tale scopo sono state sviluppate nel corso degli anni numerose tecniche che hanno portato a diversi processi con impatto più o meno importante sulle caratteristiche nutrizionali e qualitative dei prodotti. Alcune di queste tecniche sono state impiegate nel progetto "Stabilizzazione" che prevede lo studio e l'ottimizzazione di trattamenti termici, l'eliminazione o la minimizzazione degli additivi alimentari, l'applicazione di tecnologie non termiche, l'uso delle atmosfere protettive nella conservazione di varie categorie di alimenti. In particolare, nelle sperimentazioni di seguito descritte, sono stati trattati formaggi freschi, gonadi di ricci di mare, ravioli, insalate di mare, primi e secondi piatti pronti a base di carne e pesce, carciofi sottolio, carciofi di IV e V gamma, prodotti ittici affumicati. I differenti prodotti sono stati raggruppati in funzione del trattamento stabilizzante applicato ovvero:

1. Trattamenti ad alte pressioni (High Pressure Processing - HPP)
2. Trattamenti termici convenzionali
3. Trattamenti termici singoli o combinati con confezionamento in atmosfera protettiva (Modified Atmosphere Packaging - MAP) e refrigerazione
4. Confezionamento in atmosfera protettiva (MAP) combinato con la refrigerazione
5. Trattamenti di affumicatura

Il progetto nel suo complesso si è articolato nelle seguenti fasi:

1. Determinazione delle caratteristiche dei prodotti da trattare e dei processi di preparazione attuali;
2. Individuazione dei materiali e della tecnologia di confezionamento più idonei alla tecnica di stabilizzazione prescelta;
3. Messa a punto delle condizioni di stabilizzazione;
4. Verifica della stabilità microbiologica e qualitativa dei prodotti;
5. Training del personale delle imprese sulle tecnologie impiegate;
6. Tutoraggio e trasferimento;
7. Coordinamento e gestione.

Di seguito verranno illustrati tutti i risultati ottenuti.

1. PROVE DI TRATTAMENTO CON ALTE PRESSIONI IDROSTATICHE (HPP)

Note sulle Alte Pressioni Idrostatiche

Il trattamento dei prodotti alimentari mediante calore rappresenta una fase spesso necessaria al fine di distruggere i microrganismi patogeni eventualmente presenti. Tuttavia, i trattamenti termici possono essere responsabili dell'insorgenza di cambiamenti indesiderati, quali perdita di colore e di aromi, modificazioni della funzionalità di alcuni componenti, etc. Tali cambiamenti possono essere evitati o minimizzati utilizzando tecnologie alternative. Le alte pressioni idrostatiche (HPP) rappresentano una tecnologia innovativa di stabilizzazione.

Questo trattamento di conservazione degli alimenti è in grado di eliminare dal prodotto forme microbiche potenzialmente pericolose per la salute umana e frenare la proliferazione di microflore e enzimi alteranti, incidendo solo relativamente sulle caratteristiche sensoriali e nutritive del prodotto. Per trattamento ad alte pressioni s'intende un trattamento di compressione isostatica di un materiale operata attraverso l'impiego di un mezzo fluido di trasmissione della pressione. Il principio sul quale si basa è il principio di Pascal. Se si esercita una determinata pressione in un punto su un fluido incomprimibile (in questo caso l'acqua) la pressione si trasmette in tutti i punti.

Figura 1.1 Pressa per il trattamento ad alte pressioni

Quindi, un corpo immerso in quel fluido riceve il medesimo trattamento, in modo indipendente dalla sua forma e dalle sue dimensioni.

Le alte pressioni idrostatiche possono essere applicate sia agli alimenti liquidi che a quelli solidi, con la differenza che su quelli liquidi il trattamento può essere effettuato esercitando direttamente la pressione sull'alimento, mentre le derrate solide vanno confezionate sotto vuoto e poi immerse nel fluido di pressione. In figura 1.1 è riportata la foto dell'impianto HPP utilizzato per i trattamenti dei diversi alimenti. Essa è costituita da un contenitore in metallo a pareti particolarmente spesse per resistere alle alte pressioni e da un generatore di pressione, rappresentato da un sistema di pompe a stantuffo che effettuano la compressione del prodotto attraverso l'impiego di un mezzo fluido.

Questa tecnologia è stata applicata nel trattamento di un formaggio fresco, delle gonadi di riccio di mare e di filetti di pesce confezionati sottovuoto (*vacuum skin*).

I RICCI DI MARE

I ricci di mare edibili appartengono a relativamente poche specie distribuite fra diversi ordini di echinoidi regolari. Nel mar Mediterraneo, l'unica specie apprezzata è *Paracentrotus lividus*, appartenente alla classe Echinoidea, ordine Echinoida, famiglia Echinidae. Il riccio può raggiungere i 7/8 cm di diametro e il colore varia dal rosso porpora al verde oliva. È distribuito in tutto il Mediterraneo ed il nord est Atlantico, dalla Scozia alle isole Canarie. Numerosi studi hanno dimostrato che per il raggiungimento della taglia commerciale (7 cm aculei compresi) occorrono dai 4 ai 7 anni. La pesca del riccio di mare è regolamentata nel nostro paese dal D.M. n. 44 del 12/01/1995.

Figura 1.2 Gonadi di riccio di mare

La parte edibile è rappresentata dalle gonadi. Dal punto di vista biochimico, la sua composizione può variare in base alle stagioni e alla dieta (9); in generale, è un alimento ricco di acqua, mentre la sostanza secca é ricca di proteine e relativamente povera di lipidi ; la frazione lipidica è ricca in acidi grassi polinsaturi (4); il contenuto di carboidrati è scarso.

Il riccio di mare viene attualmente consumato soprattutto allo stato crudo o come ingrediente di diverse specialità culinarie tipiche; sul mercato europeo sono presenti gonadi di riccio di mare sia surgelate che sterilizzate (in banda stagnata e in vasetti di vetro), di provenienza locale (Spagna) ma soprattutto extraeuropea (Cile).

Esistono numerosi lavori riguardanti i ricci di mare dal punto di vista biologico, dell'allevamento e dell'ecologia. Scarseggiano invece i lavori sulla trasformazione e il prolungamento della *shelf-life* di questo alimento. Trattandosi di un alimento altamente deperibile, solitamente il materiale è sottoposto a trattamenti di sterilizzazione termica e venduto in scatole di banda stagnata. Il trattamento di sterilizzazione allunga notevolmente la *shelf-life*, ma incide pesantemente sulle caratteristiche fisiche e sensoriali del prodotto, che perde completamente l'originale freschezza. Per ottenere alimenti stabili, ma con elevate caratteristiche nutrizionali e sensoriali, ormai, nell'industria alimentare, si ricorre sempre più spesso a tecnologie definite "*mild*"(1,2,23).

La sperimentazione condotta, quindi, ha verificato la possibilità di preparare un prodotto minimamente trattato, stabile in condizioni di refrigerazione e con una prolungata *shelf-life*, mediante trattamento con alte pressioni idrostatiche, che, rispetto ai trattamenti di stabilizzazione termica convenzionali, dovrebbe mantenere maggiormente le proprietà sensoriali (colore, consistenza, aroma, gusto) del prodotto fresco.

PARTE SPERIMENTALE

Figura 1.3 Gonadi di riccio confezionate per il trattamento

I ricci sono stati pescati nell'arco di una giornata lavorativa. Le gonadi, poste in vasetti di vetro, sono state consegnate presso i laboratori, dove sono state rese omogenee e confezionate in buste di film plastico ad alta barriera e in coppette HPP da 70mm Ø della Aerpack (Figura 1.3), contenenti 25g e 90g di prodotto rispettivamente.

Condizioni di processo

Per le prove è stata utilizzata una pressa pilota della Flow Pressure Systems, modello HPP410100. Le gonadi di riccio sono state trattate per 10 minuti a temperature di 20, 35 e 50°C e a pressioni di 300, 350, 400, 450, 500 e 600 MPa. Un'aliquota delle gonadi di riccio non trattata è stata impiegata come controllo.

Determinazioni fisico-chimiche

Sono state effettuate misure di pH, a_w. Le misure di colore e proprietà reologiche sono state effettuate sui campioni ttrattati a 400MPa/35°C/10 min e 450MPa/35°C/10min.

Analisi microbiologiche

Il prodotto è stato conservato in cella termostata a 4°C e le analisi sono state condotte a 0, 20, 40 e 60 giorni dal trattamento sia sul controllo che sui campioni trattati a pressioni comprese tra 300 e 450 MPa.

Sono state ricercate le seguenti classi microbiche: carica totale mesofila aerobia e anaerobia, carica psicrofila aerobia, Stafilococchi, Enterobatteri, Coliformi totali, Lieviti, Clostridi solfitoriduttori, Enterococchi.

Analisi sensoriale

Il prodotto non trattato e i campioni trattati sono stati oggetto di un test di accettabilità (15).

La prova è stata condotta sottoponendo ai degustatori una unità campionaria per ciascuna condizione di trattamento e una unità di campione non trattato. I campioni sono stati presentati in forma anonima.

Ai degustatori è stato chiesto di esprimere, in una scala da 1 a 5, un giudizio di qualità sui campioni presentati all'assaggio, secondo la seguente scala:

1. Cattivo
2. Ne buono ne cattivo
3. Abbastanza buono
4. Buono
5. Molto buono

Il punteggio del panel per ciascun campione è stato espresso come media aritmetica dei punteggi. I dati sono stati oggetto di analisi della varianza a singolo fattore (ANOVA).

RISULTATI

Dalle prove effettuate risulta che il prodotto trattato a pressioni pari a 500 e 600 MPa perde le caratteristiche sensoriali tipiche del prodotto fresco, soprattutto in termini di struttura (in particolare la spalmabilità). Per questa ragione, le analisi sono state effettuate solo sui campioni trattati a pressioni non superiori ai 450 MPa.

Determinazioni fisico-chimiche

I valori di a_w e pH delle gonadi di riccio utilizzate nelle prove erano rispettivamente 0,98 e 6,11, e confermano quindi l'alto rischio di proliferazione microbica nell'alimento.

Le misure di colore effettuate indicano una differenza di colore apprezzabile visivamente nel confronto diretto fra i campioni trattati e le gonadi di riccio fresche (figura 1.4). Le differenze non sono significative dal punto di vista della accettabilità del prodotto.

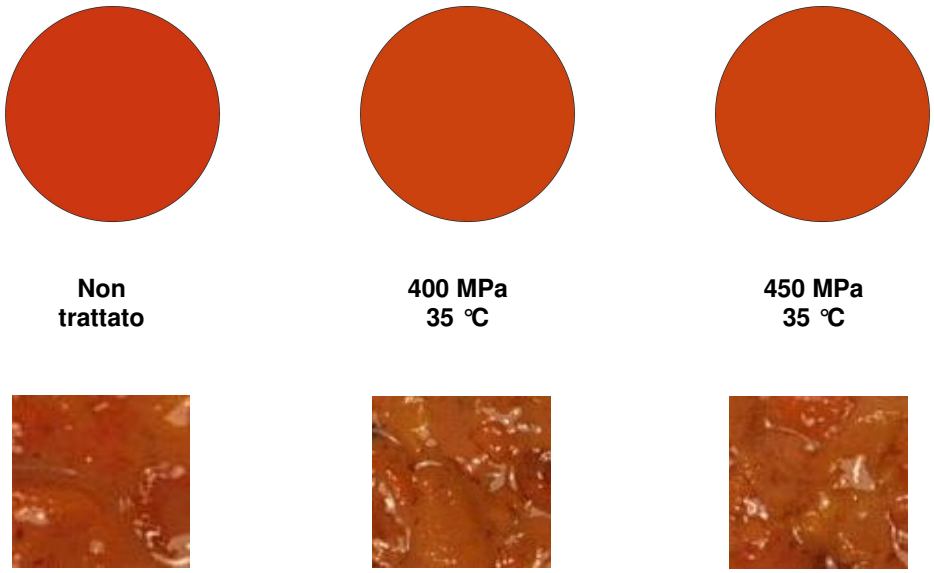


Figura 1.4 Confronto visivo tra i campioni

Analizzando i risultati delle misure reologiche, emerge che il prodotto trattato ad alte pressioni sostanzialmente conserva le caratteristiche strutturali del fresco.

Analisi microbiologiche

Le riduzioni decimali nella carica microbica totale ottenute a seguito dei trattamenti effettuati sono illustrate nella figura 1.5. È evidente l'effetto combinato di pressione e temperatura, che nel caso del trattamento a 450 MPa e 50°C porta all'ottenimento di campioni nei quali anche dopo 40 giorni di conservazione a 4°C le conte microbiche sono inferiori a 1ufc/g e dopo 60 inferiore a 10ufc/g. Anche i trattamenti più blandi forniscono comunque prodotti nei quali la concentrazione microbica si mantiene a livelli accettabili. Infatti la quantità di microrganismi rilevata nei campioni trattati a 350 e 400 MPa e temperature di 35 o 50°C si mantiene

inferiore o uguale a 10^2 ufc/g anche dopo 40 e 60 giorni dal trattamento (nel campione non trattato dopo 40 giorni la carica microbica superava 10^6 ufc/g). I risultati meno soddisfacenti sono stati ottenuti con i trattamenti effettuati a 300 MPa: dopo 40 giorni in tutti i campioni (trattati a 20, 35 o 50°C) la carica mesofila aerobia totale è superiore a 10^7 ufc/g.

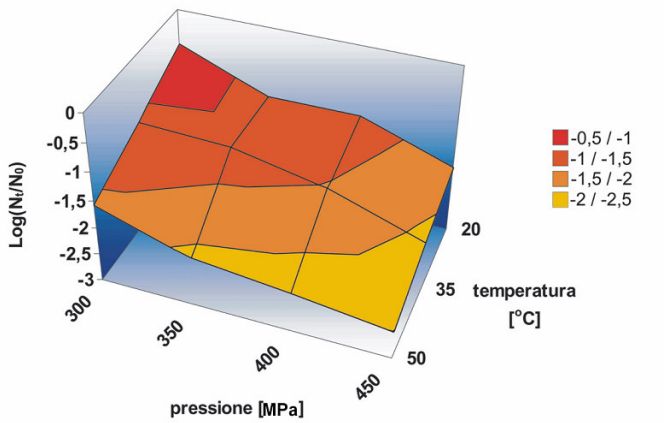


Figura 1.5 Batteri mesofili aerobi totali - Riduzioni decimali ottenute a seguito dei vari trattamenti (N_t = ufc/g dopo il trattamento, N_0 = ufc/g prima del trattamento)

I risultati ottenuti nella ricerca dei microrganismi mesofili anaerobi mostrano un andamento simile a quello degli aerobi, così come quelli relativi ai microrganismi psicrofili. In figura 1.6 sono mostrati i valori rilevati nella determinazione dei batteri psicrofili a 40 giorni dal trattamento.

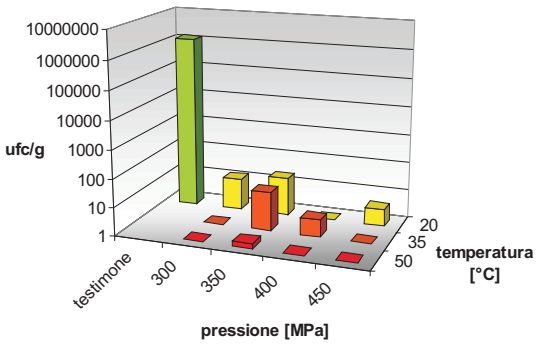


Figura 1.6 Psicrofili aerobi a 40 giorni dal trattamento

Per quanto riguarda lieviti, stafilococchi, coliformi totali, enterococchi ed enterobatteri, la contaminazione era molto bassa (nell'ordine di 10-10^2 ufc/g) già nel campione di partenza non trattato, e nei campioni trattati era assente o inferiore a 10 ufc/g anche a distanza di 60

giorni. La ricerca di clostridi ha fornito in tutti i campioni analizzati valori inferiori a 1 ufc per grammo.

Analisi sensoriale

I risultati sono riportati nella tabella seguente:

	Trattamenti		
	non trattato	400/35/10	450/35/10
Punteggio del Panel	3,5	3	4,3

Tabella 1.1 Risultati test di accettabilità

Dall'analisi statistica risulta una differenza significativa tra il prodotto trattato a 400MPa/35°C/10 min e 450MPa/35°C/10 min.

Il prodotto trattato viene percepito molto simile a quello non trattato impiegato come riferimento.

CONCLUSIONI

Dal punto di vista microbiologico le gonadi di riccio non trattate presentavano una contaminazione di partenza non superiore a 10^4 ufg/g. I trattamenti effettuati a pressioni comprese fra 350 MPa e 450 MPa e temperature comprese fra 35 e 50°C hanno portato all'ottenimento di campioni nei quali la contaminazione microbica si manteneva a livelli non superiori a 10^2 ufc/g dopo 60 giorni di conservazione a 4°C. Pressioni e temperature superiori determinano evidenti cambiamenti nella struttura del prodotto che appare notevolmente differente dal fresco.

I risultati ottenuti dimostrano come il metodo di stabilizzazione testato possa sostituirsi efficacemente a quelli tradizionali.

Il colore è variato in maniera apprezzabile visivamente ma non in modo sostanziale, dal punto di vista della accettabilità. Le proprietà strutturali dei campioni trattati sono simili a quelli del non trattato, indicando una minima influenza del trattamento sulle proprietà strutturali dell'alimento. Questi dati sono confermati da prove di condimento e assaggio del prodotto in preparazioni culinarie tipiche.

I FILETTI DI PESCE "*VACUUM SKIN*"

Sono state condotte due prove di trattamento mediante alte pressioni idrostatiche su filetti di spigola (*Dicentrarchus labrax*) e di orata (*Sparus aurata*). I filetti in oggetto vengono commercializzati freschi confezionati sotto vuoto; la *shelf life* dichiarata del prodotto è di 10 giorni in condizioni di refrigerazione a +5°C per entrambi i prodotti.

Il termine della *shelf life* coincide con la comparsa di odori sgradevoli, dovuti all'azione di enzimi endogeni, alla presenza di essudato ed in parte alla contaminazione microbica.

Lo scopo della prova è stato di verificare l'efficacia delle alte pressioni idrostatiche (HPP) nel prolungare la *shelf life* dei prodotti in questione. Su questo tipo di prodotti sono noti effetti positivi della tecnologia, in particolare i cambiamenti nella componente proteica, che limitano la formazione di essudati e la comparsa di odori anomali.

PARTE SPERIMENTALE

Inizialmente è stata condotta una prova preliminare per verificare il comportamento del prodotto alle diverse condizioni di trattamento. I filetti di spigola ed orata, confezionati singolarmente sottovuoto, sono stati trattati alla temperatura di 18°C per 10 minuti alle pressioni di 200, 250, 300 e 500 MPa (Figure 1.7 e 1.8).

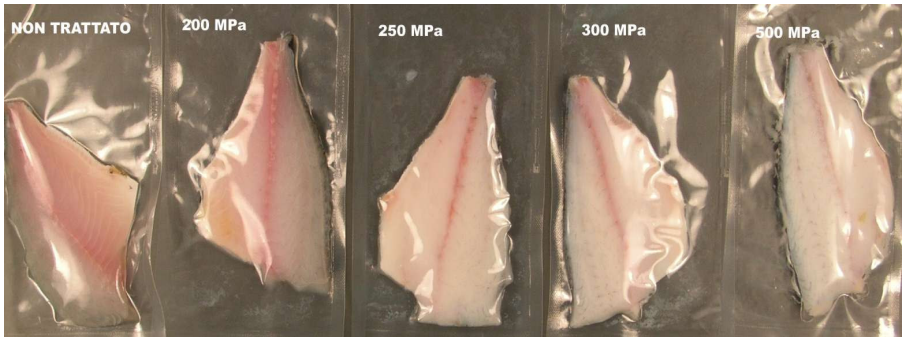


Figura 1.7 Filetti di orata trattati con HPP

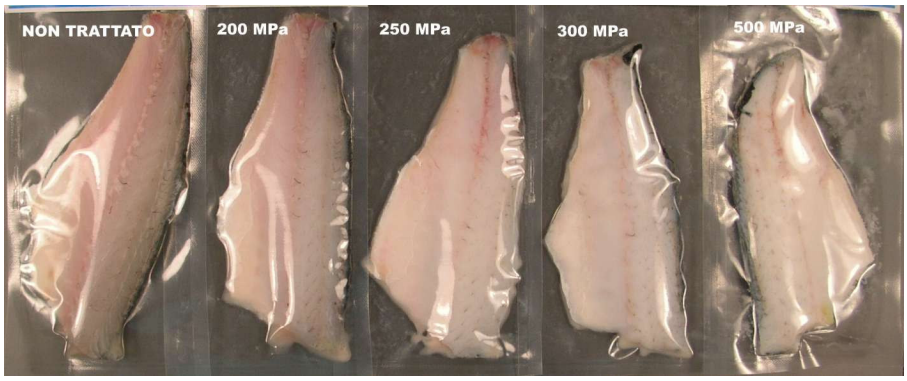


Figura 1.8 Filetti di spigola trattati con HPP

Come si può vedere dalle figure il prodotto dopo il trattamento assume un aspetto cotto in misura tanto maggiore quanto più si sale di pressione; alle pressioni maggiori inoltre i filetti appaiono molto compatti; il prodotto risulta sicuramente differente dal fresco ma in ogni caso appare accettabile all'assaggio.

Sui campioni sono state effettuate solo misure di tipo colorimetrico (coordinate CIELab) (Figura 1.9 e 1.10)

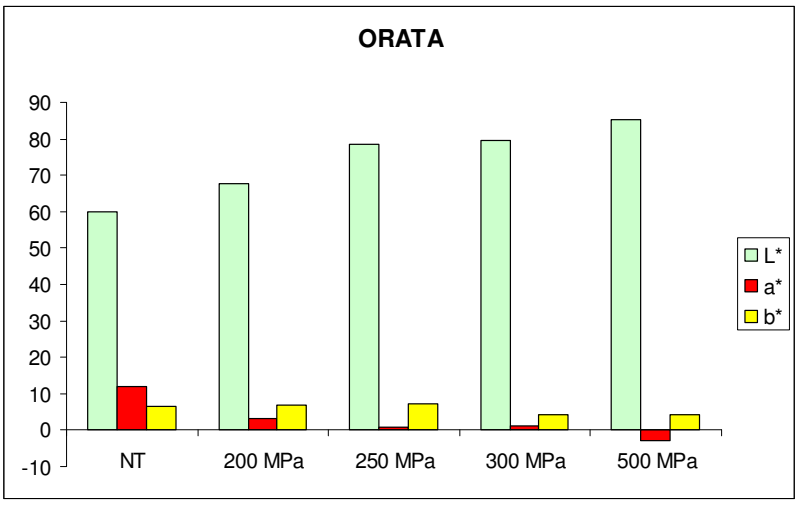


Figura 1.9 Coordinate di colore CIELab

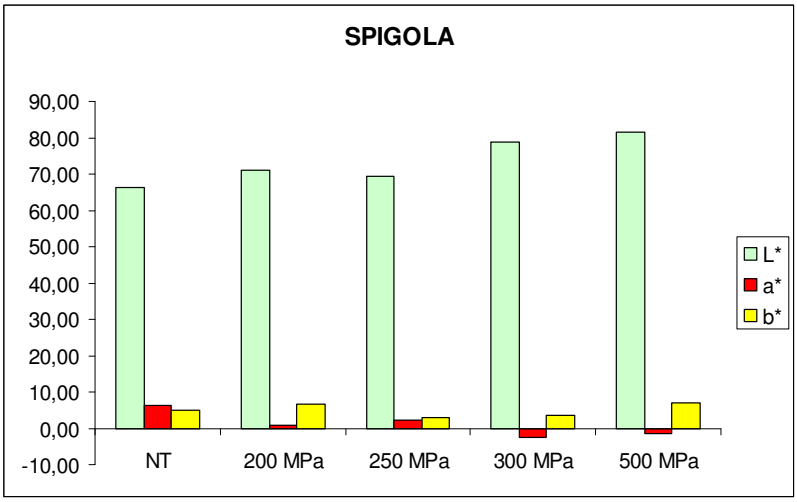


Figura 1.10 Coordinate di colore CIELab

Dai grafici si vede chiaramente come l'aumento di L sia proporzionale all'intensità del trattamento.

Una seconda prova è stata effettuata nel mese di maggio 2006, i campioni sono stati trattati a 4°C per 10 minuti alle pressioni di 250 e 500 MPa; sui campioni è stata fatta una prova di assaggio dopo cottura in olio d'oliva. Il campione trattato a 250 MPa è risultato più apprezzato anche rispetto al fresco mentre quello a 500 MPa è risultato il meno apprezzato, a causa di un aumento sostanziale della durezza.

Sui campioni trattati sono state effettuate le analisi microbiologiche a 10 giorni dal confezionamento per verificare l'efficacia del trattamento HPP dal punto di vista microbiologico; sono state ricercate le seguenti classi microbiche: mesofili aerobi, mesofili anaerobi, psicrofili, stafilococchi, coliformi totali e clostridi.

Dalle conte microbiche risulta che il prodotto trattato a 500 MPa ha una *shelf life* > di 10 gg., mentre il non trattato e quello trattato a 250MPa, allo stesso tempo, superano i limiti di legge. Dal punto di vista dello sviluppo di odori anomali e della comparsa di essudato già a 250 MPa si ottengono ottimi risultati, con l'assenza di entrambi i fenomeni.

CONCLUSIONI

Dalle prove effettuate risulta che il trattamento ad alte pressioni può essere efficacemente utilizzato per estendere la *shelf life* dei prodotti trattati, ottenendo un prodotto stabile in condizioni di refrigerazione.

IL FORMAGGIO OVINO FRESCO

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di estendere la *shelf life* di un formaggio fresco, ottenuto con latte di pecora intero pastorizzato (figura 1.11), applicando la tecnologia delle alte pressioni.

Gli studi sulle alte pressioni applicate ai formaggi riguardano gli effetti del trattamento sulle caratteristiche tecnologiche, sulla struttura, sui fenomeni di proteolisi e lipolisi e sulla conservazione. Pressioni comprese tra 300 e 600 MPa possono inattivare i microrganismi presenti nel latte o nel formaggio inclusi alcuni patogeni che possono essere causa di infezioni alimentari. In aggiunta alla distruzione microbica, sono riportati effetti migliorativi sulla cagliata e sulla maturazione del formaggio, senza che questo determini cambiamenti sostanziali nelle caratteristiche sensoriali del prodotto (30).

Figura 1.11 Il formaggio ovino fresco oggetto della sperimentazione

PARTE SPERIMENTALE

Il formaggio è stato prodotto in un caseificio industriale e trasportato in condizioni di refrigerazione nei laboratori della Porto Conte Ricerche. E' stato quindi confezionato sottovuoto in buste di film plastico fornite dall'azienda e stoccato all'interno di una cella refrigerata a 4°C per tutta la durata della sperimentazione.

Una parte dei campioni, il giorno successivo alla produzione, è stata sottoposta al trattamento ad alte pressioni. Il trattamento è stato effettuato utilizzando una pressione di 400 MPa ad una temperatura di 20°C per un tempo di 10 minuti.

La restante parte dei campioni è stata stoccata tal quale come campioni di controllo. I parametri di processo utilizzati (pressione, tempo e temperatura) sono quelli solitamente riportati in bibliografia per il trattamento dei formaggi, e sono quelli che conservano maggiormente le qualità sensoriali (colore, consistenza, aroma e gusto).

Le analisi microbiologiche sono state condotte a 1, 15, 30, 45 e 60 giorni per identificare le seguenti classi microbiche: carica mesofila totale (aerobia e anaerobia), *Staphylococcus aureus*, batteri lattici, streptococchi, lattici eterofermentanti, coliformi totali + *Escherichia coli*, lieviti, clostridi, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella*.spp. La caratterizzazione strutturale è stata effettuata mediante un dinamometro, attraverso prove di taglio e di compressione (TPA). La prova di taglio consiste nel tagliare il formaggio in due porzioni mediante una lama in acciaio e registrare le forze applicate. L'analisi di compressione è stata effettuata con l'ausilio di un piatto (Figure 1.12 e 1.13), i parametri determinati nell'analisi della TPA sono la durezza, l'elasticità e l'adesività.

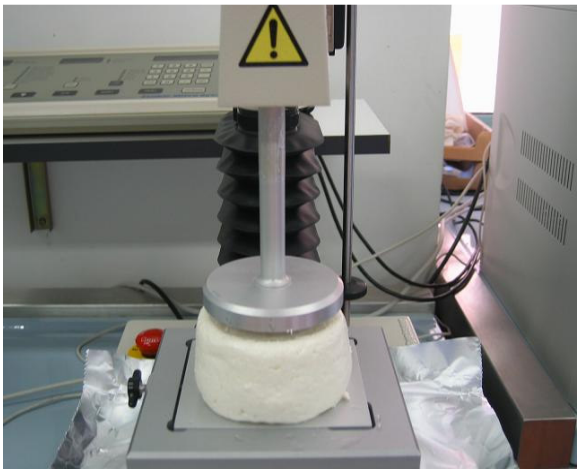


Figura 1.12 *Texture Profile Analysis* (TPA)

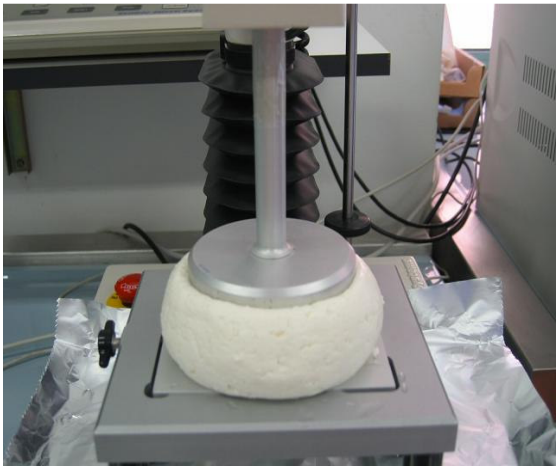


Figura 1.13 TPA: applicazione della forza

Le analisi sono state eseguite su 3 campioni non trattati (controllo) e su 3 campioni pressati per ogni tempo di analisi. Sono state inoltre effettuate analisi sensoriali di accettabilità e preferenza.

Analisi microbiologiche

Dalle analisi effettuate sul formaggio non trattato risultano assenti *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp.; inoltre non sono stati ritrovati *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, clostridi, lieviti e muffe. Il trattamento con le alte pressioni ha provocato un abbattimento della carica microbica totale (CMT) pari al 96,7 % (Figura 1.15). Successivamente la CMT tende ad aumentare, sia per il formaggio trattato che per il formaggio di controllo, sino alla fine della sperimentazione (60° giorno). Nei campioni di controllo i coliformi hanno un valore iniziale di 10^2 ufc/g e arrivano sino a 10^6 ufc/g al 15° giorno (valori superiori ai limiti di legge che quindi ne determinano la fine della *shelf life*); il loro numero aumenta ulteriormente sino alla fine della sperimentazione (45° giorno). Nei campioni trattati i batteri coliformi nei primi 30 giorni hanno valori inferiori a 1ufc/g, mentre si ritrovano al 45° giorno, il loro numero è pari a 10^4 ufc/g (valori quasi prossimi ai limiti di legge, D.P.R. 54/97). Dopo il trattamento i batteri lattici subiscono una riduzione del 99,99%. Nel formaggio di controllo (Figura 1.14) il numero di lattici parte da 10^7 ufc/g, numero che si mantiene stabile fino a 45 giorni. Nel formaggio trattato al tempo 0 sono presenti 10^2 ufc/g.; a 60 giorni il numero è> 10^7 ufc/g.

Nel controllo gli streptococchi si mantengono attorno a 10^8 ufc/g per tutta la durata della sperimentazione; sui campioni trattati il loro numero è compreso tra 10^7 e 10^8 ufc/g fino a 45 giorni; a 60 giorni si hanno conte > di 10^8 ufc/g.

Per quanto riguarda i batteri lattici eterofermentanti, nel campione non trattato la carica è pari 10^3 ufc/g a 15 giorni e questo valore si mantiene costante sino al 45° giorno, mentre nel formaggio trattato abbiamo conte iniziali molto basse (10^1 ufc/g) e tale valore si mantiene costante sino al 45° giorno; al 60° giorno si contano 10^4 ufc/g e si osserva lo sviluppo di gonfiori nelle confezioni.

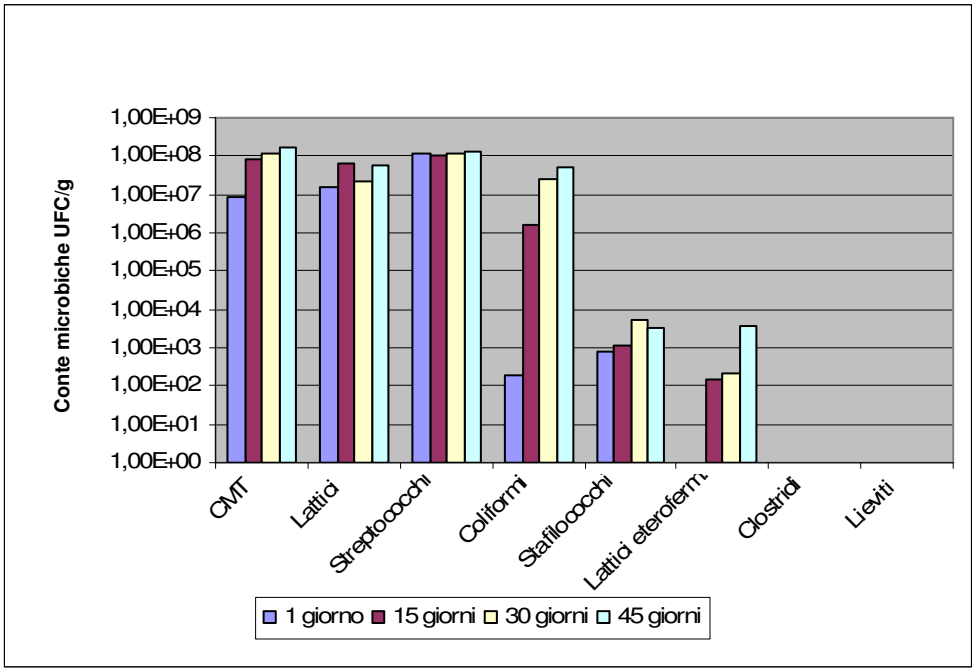


Figura 1.14 Conte microbiche del campione "controllo"

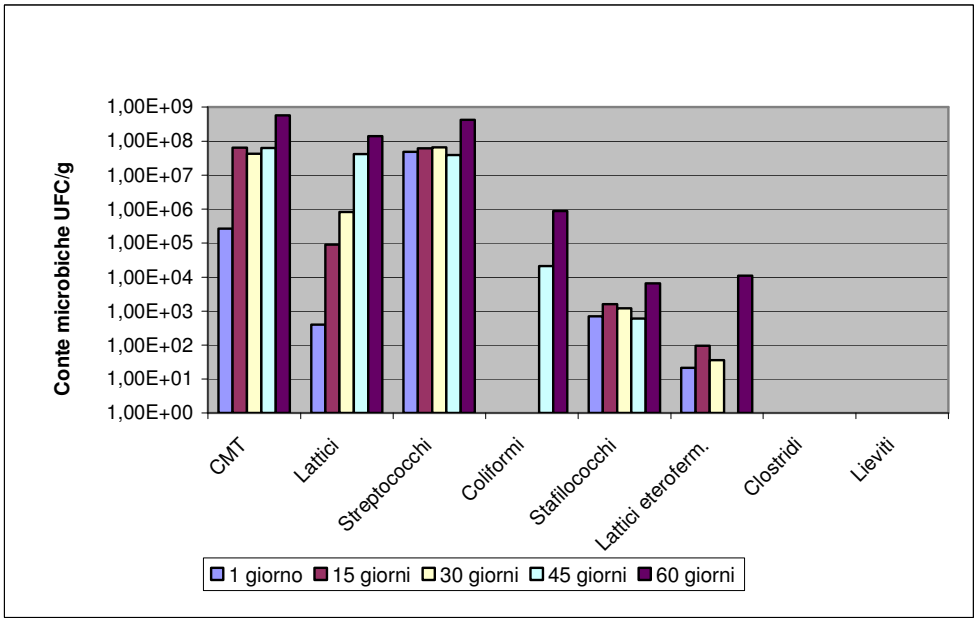


Figura 1.15 Conte microbiche del campione "trattato"

Analisi sensoriali

Scopo delle analisi sensoriali era quello di verificare se il trattamento del formaggio con le alte pressioni (400 MPa) causava delle variazioni nelle caratteristiche sensoriali del prodotto.

A tale scopo i due formaggi (controllo e trattato) sono stati sottoposti al test d'accettabilità, per verificare la preferenza ed il gradimento del formaggio da parte di consumatori comuni.

Secondo i giudici gli attributi che discriminano i due formaggi sembrano legati al sapore (salato) e alla struttura percepita in bocca (morbido, granuloso). Al primo test i giudici hanno riconosciuto che il formaggio trattato è più salato e morbido. Dopo 15 giorni è risultato più salato e più morbido il formaggio tradizionale (controllo).

Il test d'accettabilità, svolto dopo 4 giorni di maturazione, ha fornito per entrambi i formaggi il giudizio di "abbastanza buono", anche se il valore del formaggio di controllo era leggermente superiore al quello attribuito al trattato. A trenta giorni si è potuto effettuare il test unicamente con il formaggio trattato, in quanto il formaggio di controllo non era più edibile. I risultati ottenuti indicano un gradimento del prodotto simile a quello ottenuto nella prima prova.

Analisi di struttura

In figura 1.16 si può notare l'evoluzione dei diversi parametri di TPA nel tempo, a 1, 15, 30, 45 e 60 giorni.

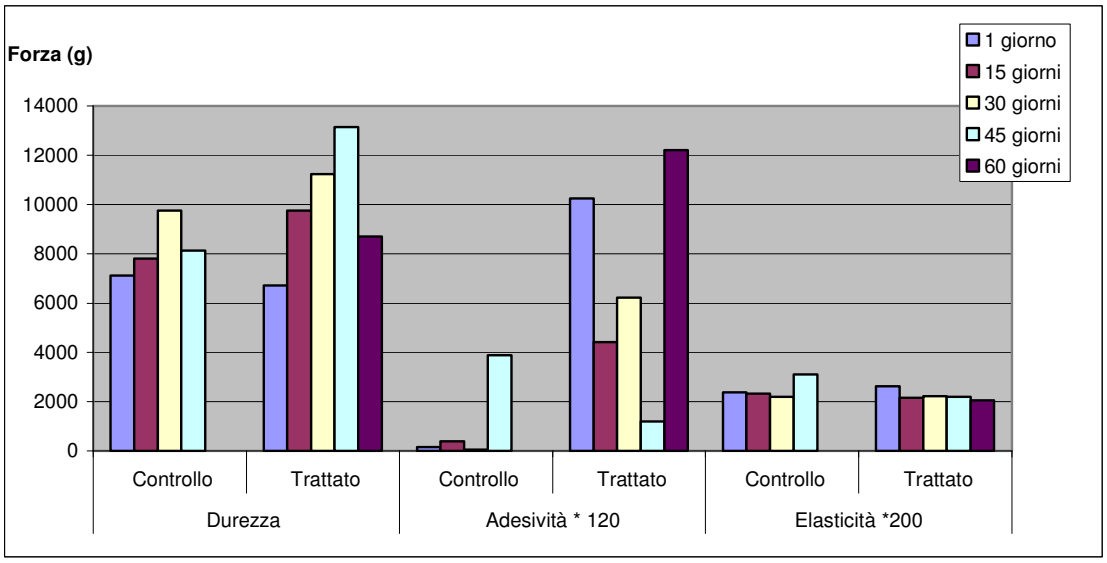


Figura 1.16 Evoluzione dei diversi parametri strutturali di TPA nel tempo

Alle 24 ore i due campioni hanno la stessa durezza. A 15, 30 e 45 giorni il campione trattato è più duro rispetto al campione di controllo. Per entrambi i campioni si ha un aumento della durezza nel tempo, fino a 30 giorni per il campione di controllo, fino a 45 giorni per il campione trattato, i valori diminuiscono per entrambi nell'ultimo punto d'analisi, molto probabilmente per effetto della proteolisi. L'adesività nel formaggio trattato è sempre maggiore e si mantiene costante nel tempo mentre nel controllo aumenta a 45 giorni. Non vi sono differenze nei valori di elasticità tra i due campioni.

L'elasticità non varia nel tempo (fino al 60° giorno) nel formaggio trattato mentre nel controllo si mantiene costante sino al 30° giorno e successivamente si registra un incremento del valore di elasticità rispetto ai tempi precedenti.

Per quanto riguarda la prova di taglio, subito dopo il trattamento, il campione trattato oppone una resistenza inferiore al taglio, la lama infatti penetra più facilmente nel formaggio, mentre a 30 giorni non vi sono differenze. Per quanto riguarda l'evoluzione nel formaggio trattato, c'è un aumento della durezza di taglio a 30 giorni e una successiva diminuzione ai 60 giorni. L'analisi delle curve di taglio elaborate dal software dello strumento (dati non riportati) indica che la struttura del formaggio trattato è più omogenea, infatti la curva è molto più lineare, mentre nel formaggio di controllo la curva è ondulata, quindi la struttura del formaggio è sicuramente più granulosa.

CONCLUSIONI

Il trattamento di stabilizzazione con le alte pressioni, applicato ad un formaggio ovino fresco, ha consentito di estendere la sua *shelf life* dagli attuali 15 giorni ad oltre 45 giorni. In base al decreto 54/97 che riporta i limiti microbiologici relativi ai prodotti a base di latte, abbiamo visto che la durata commerciale (*shelf life*) del formaggio di controllo non può essere superiore ai 15 giorni, infatti dopo tale termine i valori delle cariche microbiche risultano essere superiori ai limiti di legge e pertanto il prodotto non può essere commercializzato. Per il formaggio trattato invece, alla fine della sperimentazione (45° giorno) le conte microbiche sono ancora entro i limiti di legge per cui il prodotto risulta essere sicuro dal punto di vista igienico sanitario e quindi commercializzabile.

Il trattamento ha determinato dei cambiamenti nel formaggio sia nella struttura che nel sapore. Dal punto di vista strutturale i due formaggi almeno inizialmente hanno una durezza simile e col proseguo della sperimentazione (45 giorni) la durezza aumenta nel trattato, diventando più duro del controllo. Si può inoltre notare che il trattato ha una struttura interna più uniforme, omogenea mentre il controllo ha una struttura più granulosa. Queste differenze sono state confermate sia dalle analisi strumentali che dall'assaggio dei campioni.

Dalle analisi sensoriali sono emerse delle lievi differenze tra i due campioni. Ad entrambi i campioni è stato attribuito il giudizio di "abbastanza buono" anche se il valore attribuito al formaggio trattato era leggermente inferiore. Il risultato può considerarsi tuttavia soddisfacente, segno evidente che anche il campione trattato è stato apprezzato dagli assaggiatori.

Bibliografia

1. Arcangeli G., Baldrati G., Pirazzoli P., "La trasformazione dei prodotti della pesca: tecnologia, controllo e igiene di lavorazione" Faenza, Stazione sperimentale per l'industria delle conserve alimentari, Litografica Faenza s.r.l., 2003, pp. 442.
2. Butz. P., Tauscher B. "Emerging technologies: chemical aspects" *Food research international* 35 (2002) 279-284.
3. Carpi G., Gola S., Maggi A., Rovere P., Buzzoni M., "Crema di salmone trattata con l'alta pressione: shelf-life alle temperature di refrigerazione". *Industria Conserve*, 70, 386-396, 1995
4. Cengarle L., Chessa L.A., Pantaleo A., Tilloca G., Vitale L. "Aspetti della composizione biochimica di alcune specie di invertebrati marini di interesse economico" *Biol. Mar. Medit.,* (2003), 10 (2): 327-334.
5. Chéret R., Chapleau N., Delbarre-Ladrat C., Verrez-Bagnis V., de Lamballerie M., 2005. "Effects of high pressure of texture and microstructure of sea bass (Dicentrarchus labrax L.) fillets." *J. Food Science* 70:477-483.
6. Commission Internazionale de l'Eclairage (CIE) "Recommendation on Uniform Color Spaces, Color difference Equations, Psychometric Color Terms" – Supplement No. 2 to CIE Pubblication No. 15, Colorymetry, Bureau Central de la CIE, Paris, 1978
7. Cruz-Romero M., Smiddy M., Hill.C.,Kerry J.P., Kelly A.L. "Effects of High pressure treatment on physicochemical characteristics of fresh oyster (*Crassotrea gigas*) *Innovative food science and emerging technologies,* 5 (2004), 161-169.
8. Decreto Ministeriale n. 44 12/01/1995 "Disciplina della pesca del riccio di mare" Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n. 20 del 25 gennaio 1995
9. Fernandez C. "Effect of diet on the biochemical composition of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) under natural and rearing conditions (Effect of diet on biochemical composition of urchins)" *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 118A. No. 4, pp. 1377-1384, 1997.
10. Flick G., 2003. "Novel application of high pressure processing" Ed. Sea Grant Virginia.
11. Galazka V.B., Summer I.G., Ledward D.A., "Changes in protein-protein and protein-polysaccaridae interactions induced by high pressure", *Food chemistry* Vol 57, n. 3, pp.393-398, 1996.
12. Harrigan, Wilkie F., "Laboratory methods in Food Microbiology". San Diego, Academic Press, 1998
13. Hendrickx M.E.G., Knorr D. "Ultra high pressure treatments of foods". New York, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002
14. HurtadoJ.L., Montero P., Bolderias J., Solas M.P., 2001. "High pressure/temperature treatment effect on the characteristic of octopus (*Octopus vulgaris*) arm muscle." *Eur. Food Res. Technol.* 213: 22-29
15. Lawrence J.M. "Edible sea urchins: biology and ecology". Collana: Developments in acquaculture and fisheries science – 32. Amsterdam, Elsevier Science B.V., 2001
16. Matsuno, T., Tsushima, M., "Carotenoids in Sea Urchins" in "Edible Sea Urchins: Biology and Ecology" Ed. by J. M. Lawrence pp.115-138 Elsevier Science B. V., 2001
17. Miglioli L.,Gola S., Maggi A., Rovere P., Carpi G., Scaramuzza N., G. Dall'Aglio,"Microbiological stabilization of low acid food using a combined high pressure-temperature process". In: High pressure research in the Biosiences and Biotechnology. Leuven (Belgium), Edited by: Heremans K., , Lauven University Press, 1997
18. Porretta S. "Analisi sensoriale e Consumer Science" Pinolo, Chiriotti editori, 2000, pp.261-263.
19. Rao, M. A., "Rheology of fluid and semisolid foods: Principles and applications" Aspen Pub. Inc., 1999
20. Rigg, B., "Colorymetry and the CIE system" in "Color Physics for industry" ed. By R. McDonald pp. 97-114, Society of Dyers and Colourists, 1987
21. Riva, M., "Approfondimenti: Il colore degli alimenti e la sua misurazione" HTML file.
22. Roggio T., Campus M., Cappuccinelli R., Porcu A., Porcu M.C., Scano E. A.. "Trattamento ad alte pressioni di un prodotto ittico consumato crudo: le gonadi di riccio di mare (*Paracentrotus lividus*)" Ricerche e Innovazioni nell'industria alimentare, Vol VII - Chiriotti Editori (in pubblicazione).
23. Rovere P., Gola S., Brutti A., Franceschini B., "Applicazione di alta pressione idrostatica per aumentare la sicurezza e la shelf-life dei piatti pronti" *Il Pesce ,* 3, 116-118, 2006.
24. Serrazanetti G.P., Pagnucco C., Conte L.S., Cattani O., "Hydrocarbons, sterols and fatty acids in sea urchin (Paracentrotus lividus) of the Adriatic Sea". *Chemosphere* Vol. 30 n.8, pp. 1453-1461, 1995.
25. Shpigel, M., McBride, S. C., Marciano S., Ron S., Ben-Amotz, A. "Improving gonad colour and somatic index in the European sea urchin Paracentrotus lividus" *Acquaculture*, 245, 101-109, 2005
26. Simpson Benjamin K, "High pressure processing of fresh seafoods" In: Process-induced chemical changes in food, Collana:Advances in experimental medicine and biology Vol 434. New York, Plenum press, pp. 67-80.

27. Smelt J.P.P.M, Dutreux N. “Inactivation kinetics of microrganisms by High Pressure”. In: High pressure food science, Bioscience and Chemistry. Cambridge, Edited by Neil S. Isaacs., The Royal Society of Chemistry 1998.
28. Stabili L., Lassagues M., Pastrore M. “Preliminary Study on the Antibacterial Capabilities of Eggs of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea)” *Journal of Invertebrate Pathology* Volume: 67, Issue: 2, March, 1996, pp. 180-182.
29. Steffe, J. F., “Rheological methods in food process engineering” 2nd ed. Freeman Press 1996.
30. Trujillo A. J. et al – Application of high–hydrostatic pressare on milk and dairy products: a review - *Innovative Food Science and Emerging tecnologies* 3 (2002) 295-307
31. Von Elbe J.H., Schwartz, S.J. “Colorants” in “Food Chemistry“ ed. By O. R. Fennema pp. 651-722 Marcel Dekker Inc., 1996.

2. IMPIEGO DI ATMOSFERE PROTETTIVE

Note sul confezionamento in atmosfera protettiva

Per "confezionamento in atmosfera protettiva" si intendono diverse tecniche che hanno in comune la sostituzione della atmosfera interna delle confezioni con una miscela di gas idonea alla conservazione del prodotto alimentare. La messa a punto del *packaging* in MAP consiste nello studio delle combinazioni di prodotto-confezione ideali per prolungare il più possibile l'igienicità e la conservabilità. Il prodotto viene confezionato in vaschette o sacchetti con una pellicola plastica dotata di adeguata permeabilità ai gas e al vapore acqueo, a seconda del tipo di prodotto, sostituendo nel contempo la normale aria contenuta nella confezione (formata per il 78% di azoto, il 20% circa di ossigeno e il restante da vapore acqueo, anidride carbonica e altri gas) con uno o più tipi di gas (da soli o in miscela tra di loro) in concentrazioni appositamente studiate per tenere sotto controllo lo sviluppo della flora microbica nell' alimento, limitare determinate reazioni e stabilizzare al massimo le caratteristiche sensoriali. In base alla attuale legislazione italiana non è vietato alcun tipo di gas per effettuare il confezionamento in atmosfera protettiva.

Si stanno compiendo studi approfonditi sui gas di nuova generazione (argon, elio e soprattutto monossido di carbonio CO) per verificarne vantaggi e controindicazioni.

Nella pratica vanno studiate miscele di gas in concentrazioni opportune praticamente per ogni tipo di prodotto che si vuole condizionare in atmosfera protettiva.

L'atmosfera protettiva non è di per se, da sola, sufficiente a garantire la conservabilità degli alimenti per cui viene associata ad altri trattamenti volti a incrementare l'effetto sulla durata.

CARCIOFO DI IV GAMMA

Lavorazione industriale del carciofo

Il carciofo (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) rappresenta la specie orticola di maggiore importanza in Italia quanto a superficie agricola utilizzata, che si attesta attorno ai 50.000 ha, con una resa media di circa 10 t/ha (5) e una offerta realizzata di 500.000 t annue. In Sardegna la coltura interessa 13.500 ha, con una produzione di circa 105.000 t; il 70-75% della superficie a carciofo è interessata dalla varietà Spinoso Sardo, cultivar precoce, dai capolini verde e viola, con un calendario di raccolta da novembre a maggio (27).

Il carciofo si presta a diversi tipi di lavorazione industriale. La gamma di prodotti ricavabili va dal semilavorato, alle semiconserve e alle conserve. La qualità e le caratteristiche della materia prima sono fattori che condizionano le successive lavorazioni, per ottenere un prodotto finito che risponda a determinati standard qualitativi. In generale, il carciofo destinato alla lavorazione deve essere integro, avere un calibro uniforme (compreso tra 45 e 70 mm), essere esente da avvizzimenti e attacchi parassitari, essere privo di odori e sapori estranei e avere uno sviluppo del pappo fiorale inferiore ai 2 mm.

Nella figura 2.1 sono schematizzate le operazioni successive alla raccolta della materia prima per l'ottenimento di diverse tipologie di prodotti.

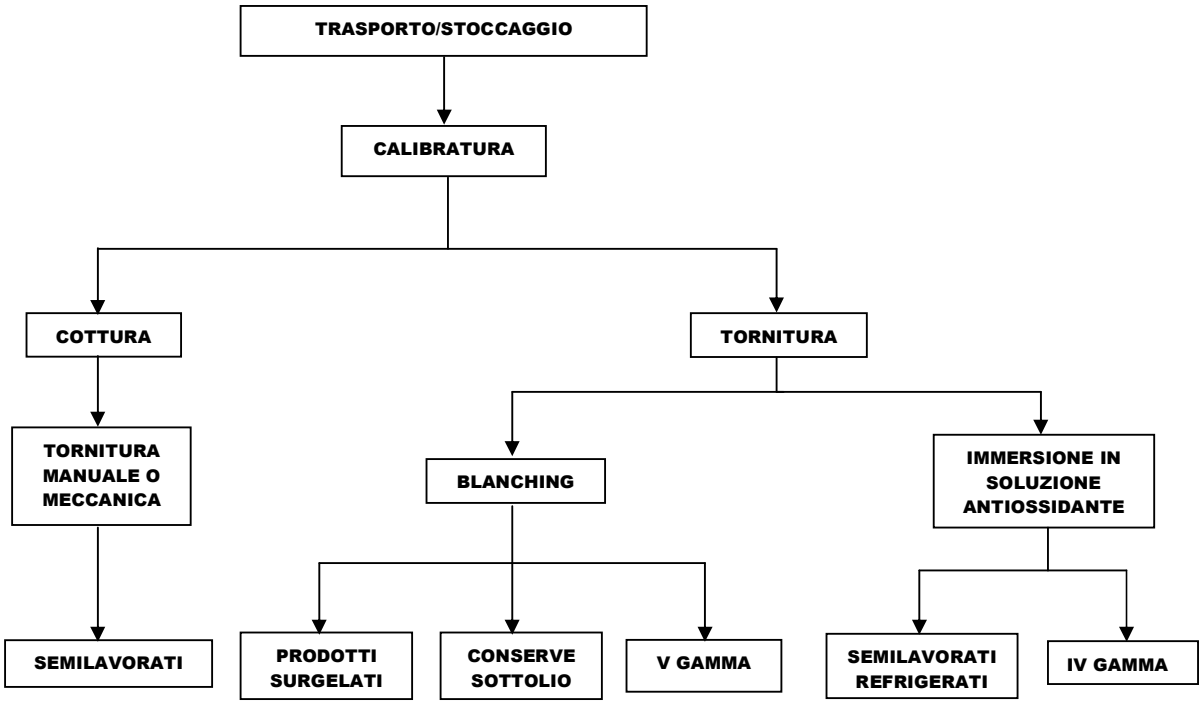


Figura 2.1 Schema riassuntivo delle operazioni di trasformazione del carciofo

Gli ortaggi di IV gamma

Nel settore dell'ortofrutta si possono individuare diversi tipi di prodotti inquadrabili nelle cosiddette gamme commerciali. La prima gamma include i prodotti freschi; la seconda le conserve, la terza gamma i surgelati, la quarta i vegetali lavati, tagliati e confezionati (pronti all'uso), e la quinta quelli sottoposti a cottura (bollitura, lessatura o grigliatura).

La quarta gamma ha incontrato negli ultimi tempi una sempre crescente richiesta da parte dei consumatori. Tali prodotti sono destinati principalmente alla ristorazione collettiva e al consumo familiare, consentendo una riduzione del lavoro di preparazione dei piatti e la prolungata disponibilità nel tempo. Questi alimenti possono subire blandi interventi di stabilizzazione volti al rallentamento dello sviluppo microbico e alla riduzione dei fenomeni di imbrunimento. Le operazioni di trasformazione dei vegetali di IV gamma comprendono di norma, pelatura, taglio e riduzione in pezzi, seguite dal confezionamento, che può avvenire in buste o vassoi sigillati con film plastici. Gli obiettivi fondamentali della "lavorazione al minimo" di vegetali freschi sono il mantenimento della freschezza e delle proprietà nutrizionali e il conferimento al prodotto di una *shelf life* (da 4-7 giorni fino a tre settimane) che ne consenta la distribuzione nel circuito commerciale.

Per garantire una buona qualità di questi prodotti è indispensabile curare tutte le fasi della trasformazione, dalla scelta della materia prima al confezionamento, le condizioni di stoccaggio e la distribuzione del prodotto finito. I fattori chiave della lavorazione possono riassumersi nei seguenti punti:

- Qualità delle materie prime (cultivar, condizioni pedoclimatiche, pratiche colturali, raccolta e stoccaggio)
- Igiene e applicazione del piano di autocontrollo
- Temperature di processo
- Lavaggio prima e dopo la pulitura (qualità dell'acqua di lavaggio; uso di additivi per la disinfezione o la prevenzione dell'imbrunimento)
- Operazioni di taglio
- Inibizione dell'imbrunimento enzimatico
- Utilizzo di materiali e tecnologie di confezionamento idonei (plastiche a permeabilità selettiva ai gas, resistenti alle sollecitazioni, atossiche)
- Controllo delle temperature e dell'umidità durante la distribuzione e la vendita al dettaglio

La materia prima da utilizzare nella produzione di vegetali di IV gamma deve necessariamente essere di prima qualità, raccolta e stoccata nelle giuste condizioni di

temperatura e umidità. La lavorazione deve avvenire nel rispetto della massima igiene, seguendo le Norme di Buona Fabbricazione e gli specifici piani di autocontrollo.

Nella tabella 2.1 sono illustrati i punti critici di controllo e le misure usualmente adottate nei piani di autocontrollo relativi alla produzione di frutta e ortaggi pronti all'uso (23). Da rilevare che in Italia non esiste ancora una normativa specifica sulla qualità igienica per i prodotti di IV gamma.

Operazione critica	Pericoli	Punti critici di controllo	Misure di prevenzione e controllo
Coltivazione	Contaminazione da patogeni fecali Infestazioni da insetti e funghi	Tecniche di coltivazione	• Ispezione delle fonti di approvvigionamento dell'acqua* • Uso di antiparassitari
Raccolta	Deterioramento microbico ed infestazione da insetti Contaminazione incrociata	Determinazione dello stadio di maturazione del prodotto Manipolazione Controllo della temperatura Sanitizzazione	• Raccolta prima dello stadio di maturazione ottimale • Minimizzare danni meccanici • Raccolta al mattino o alla sera • Impiego di raccoglitori che conoscano le norme igieniche di base
Trasporto	Crescita microbica Contaminazione incrociata	Tempo/temperatura Fasi di carico Verdura Contenitori	• Mantenere bassa la temperatura • Evitare trasporti a lunga distanza • Mantenere la temperatura uniforme nei contenitori adibiti al trasporto • Evitare danni, non caricare eccessivamente i contenitori • Separare in campo gli ortaggi sani da quelli danneggiati • Utilizzare contenitori di metallo o plastica ben lavati/sanitizzati
Lavaggio	Contaminazione dall'acqua	Acqua Fasi di lavaggio Rimozione dell'acqua in eccesso	• Utilizzare acqua potabile, controllare periodicamente la presenza di batteri coliformi • Controllare la contaminazione microbica dopo la clorurazione e l'immersione in soluzioni antimicrobiche • Non caricare eccessivamente i contenitori di lavaggio/cambiare l'acqua periodicamente • Rimuovere l'eccesso di acqua
Selezione	Contaminazione incrociata	Selezionatore Illuminazione Trasporto	• Impiego di selezionatori che abbiano esperienza nell'ispezione degli ortaggi • Illuminazione appropriata • Pulizia e disinfezione periodica
Confezionamento	Crescita microbica	Film plastici di confezionamento Controllo dell'umidità relativa e della temperatura	• Scegliere correttamente la permeabilità del film • Controllare periodicamente la composizione dei gas, tramite tecniche semplici • Utilizzare film impregnati di fungicidi • Rimuovere attentamente l'acqua in eccesso • Utilizzare film con proprietà antiappannante • Controllare la temperatura di prodotto/conservazione ad intervalli regolari
Conservazione/ Distribuzione	Crescita e diffusione di microrganismi	Controllo della temperatura Illuminazione Interventi del consumatore	• Mantenere la temperatura di conservazione del prodotto tra 0-5 °C • Evitare la formazione di condensa, attraverso il controllo della temperatura • Considerare gli effetti della luce** • Fornire spiegazioni in etichetta sulle modalità di conservazione

Tabella 2.1 Pericoli, punti critici di controllo, procedure preventive e di controllo durante la lavorazione e il confezionamento di frutta e ortaggi pronti per l'uso.
* Per prodotti coltivati direttamente a terra e consumati crudi.
**La luce può stimolare la fotosintesi nei prodotti a colorazione verde modificando la composizione dei gas nella confezione.

Problematiche relative alla produzione di carciofo di IV gamma

I fattori che limitano la *shelf life* del carciofo di IV gamma possono essere riassunti nei seguenti punti:

- Respirazione
- Imbrunimento enzimatico
- Alterazione microbiologica
- Avvizzimento e rammollimento dei tessuti

Respirazione

Frutta e ortaggi, separati dalla pianta con la raccolta, continuano a vivere per un certo tempo, utilizzando la fotosintesi e le riserve accumulate, per il loro metabolismo. Il processo di demolizione delle sostanze nutritive (amido, zuccheri, acidi organici) con la produzione di energia, acqua e anidride carbonica viene chiamata respirazione cellulare. Naturalmente, mancando nei vegetali raccolti l'apporto di nuovi nutrienti da parte della pianta, tale attività di demolizione porta il vegetale alla senescenza e quindi alla morte dei tessuti. Si può affermare che la *shelf life* dei prodotti vegetali è inversamente proporzionale all'intensità della loro attività respiratoria (4), che costituisce quindi un importante parametro per la determinazione della conservabilità degli stessi. Essa viene espressa in ml di O_2 consumato o CO_2 prodotta per ogni kg di prodotto, per ora di conservazione, in condizioni standard di temperatura, umidità e pressione. Un importante parametro legato all'attività respiratoria è il cosiddetto Q10, ovvero l'aumento della velocità di respirazione per un aumento di 10°C di temperatura, entro limiti fisiologici (da 0-2 °C a 35-40°C) e si attesta, in condizioni normali, tra 1,8 e 3. Appare quindi evidente che il parametro fondamentale per controllare la respirazione è proprio il controllo della temperatura di conservazione.

Imbrunimento enzimatico

Per imbrunimento enzimatico si intende l'insieme di reazioni chimiche di ossidazione che avvengono nei tessuti vegetali lesionati a carico dei composti fenolici per intervento degli enzimi polifenolossidasi, naturalmente presenti all'interno delle cellule (8). Queste reazioni portano alla formazione di composti scuri, in particolare in corrispondenza delle zone di taglio.

L'imbrunimento enzimatico di verdure e ortaggi può essere inibito attraverso l'inattivazione termica (*blanching*) o chimica dell'enzima (acidificazione o solfitazione), e il controllo della concentrazione di ossigeno nella confezione. Per inibire lo sviluppo dell'imbrunimento vengono anche utilizzati i solfiti, che tuttavia possono provocare gastriti e crisi asmatiche nei

soggetti sensibili. Di conseguenza, è in continuo aumento l'interesse verso validi mezzi sostitutivi, quali l'immersione in soluzioni di acidi organici (per esempio: acido acetico, acido citrico, acido ascorbico, acido lattico) combinata con il confezionamento in atmosfera protettiva (MAP) con bassa concentrazione di ossigeno.

Un trattamento tipo è costituito dall'immersione in una soluzione contenente un agente riducente (acido ascorbico), un acidulante (acido citrico) ed un agente chelante (EDTA). L'attività combinata di questi composti è in molti casi additiva, anche se sono stati notati effetti sinergici. Va notato che bisogna considerare non solo gli effetti di questi trattamenti sul colore, ma anche su tutti gli altri attributi di qualità.

Alterazione microbiologica

Il rallentamento della proliferazione microbica può essere effettuato già nelle prime fasi di lavorazione mediante un corretto lavaggio associato alla sanitizzazione con l'impiego di agenti antimicrobici. Per ridurre i residui di fitofarmaci , di suolo e la contaminazione batterica e fungina, il prodotto prima di essere processato deve essere sottoposto a lavaggio in acqua potabile clorata (da 50 a 100 mg/L di cloro libero) oppure addizionata di biossido di cloro 1-3 mg/L, seguito dal risciacquo in acqua potabile. L'acqua deve essere preferibilmente refrigerata (5-6°C), per favorire la cicatrizzazione dei tessuti vegetali. Alternative sono rappresentate dall'utilizzo di ozono o acido perossiacetico.

La conservazione in condizioni di refrigerazione riduce la moltiplicazione microbica e prolunga la "freschezza" del prodotto rallentando le reazioni di alterazione chimica e la respirazione cellulare. Nel caso del carciofo, bisogna evitare temperature troppo basse per evitare danni da freddo che si manifestano con imbrunimenti e necrosi dei tessuti. Il carciofo tollera bene le normali temperature di refrigerazione (4-6°C).

Il confezionamento in atmosfera protettiva contribuisce, con l'abbassamento della concentrazione di ossigeno e l'aumento della concentrazione di anidride carbonica, a prolungare il tempo di conservazione.

Avvizzimento e rammollimento dei tessuti

L'attività fisiologica dei tessuti vegetali continua, come si è detto, dopo la raccolta e si manifesta con fenomeni di avvizzimento e rammollimento dei tessuti.

L'avvizzimento è dovuto principalmente alla traspirazione, cioè il trasferimento dell'acqua contenuta all'interno del vegetale verso l'atmosfera circostante. Essa è proporzionale alla differenza di umidità tra vegetale e ambiente e alla superficie esposta (che nel caso del carciofo è molto elevata) e viene inoltre accentuata dai tagli e dalle lesioni che il prodotto

subisce nella lavorazione. Il rammollimento è legato all'attività di enzimi (cellulasi, poligalatturonasi etc.) che demoliscono la parete delle cellule, con perdita di rigidità dei tessuti. La loro attività può essere rallentata abbassando la temperatura di conservazione.

Materiali e tecnologie di confezionamento dei vegetali di IV gamma

Il confezionamento è uno dei punti critici della filiera di produzione degli ortaggi di IV gamma, e ancora molto rimane da fare nella messa a punto di combinazioni ottimali di film, prodotto, atmosfera interna per le diverse specie vegetali. Il confezionamento in atmosfera protettiva (MAP) appare essere una strada promettente in questo senso.

Nel caso dei vegetali freschi, bisogna tener conto del fatto che anche dopo la raccolta i tessuti vegetali continuano ad esercitare una attività metabolica (respirazione cellulare, attività enzimatiche) che porta inevitabilmente al consumo dell'ossigeno presente nella confezione e alla produzione di anidride carbonica. Non si tratta dunque di alimenti "statici", ma di tessuti vivi, che necessitano di un particolare confezionamento. Infatti, se si vuole mantenere all'interno della confezione una certa composizione di gas, è necessario utilizzare un film che consenta l'uscita della CO2 prodotta e l'ingresso dell'ossigeno necessario alla respirazione, in una giusta proporzione che dipende da un parametro, la permeabilità, propria dei diversi polimeri plastici. Per questi prodotti si parla più precisamente di EMA (*Equilibrium Modified Atmosphere*) una tecnica di confezionamento che consiste nella creazione di una atmosfera modificata di equilibrio. Con questa tecnica, il prodotto è confezionato con film plastico a permeabilità controllata, in sacchetti o vaschette, all'interno dei quali è stata posta una certa combinazione di gas (2-5% O_2, 3-10%CO_2, N_2 riempimento). Se il coefficiente di trasmissione dell'ossigeno del film è pari al tasso di consumo dell'ossigeno, si mantiene all'interno della confezione una atmosfera modificata di equilibrio. Come effetto della respirazione dei tessuti vegetali si ha anche la produzione di anidride carbonica, che passa all'esterno della confezione ad un tasso che dipende dal coefficiente di trasmissione della CO_2 del film. La progettazione di un adeguato *packaging* consiste nello stabilire i coefficienti di trasmissione dell' O_2 e della CO_2 necessari a mantenere una EMA di 2-5% O_2 e 3-10%CO_2 all'interno della confezione, in base ai quozienti respiratori (RO_2, RCO_2) del vegetale confezionato (14,19,34).

Gli effetti della atmosfera modificata sulla conservabilità sono diversi: il basso tenore di ossigeno rallenta la respirazione e quindi la senescenza dei tessuti e la formazione di *off-flavours* (4), rallenta la moltiplicazione di microrganismi aerobi alternanti (12). La percentuale relativamente alta di CO_2 dovrebbe, tra gli altri, rallentare la respirazione,

abbassare il pH dei tessuti, ridurre i danni da freddo (22). Al 10% non ha praticamente effetto di contenimento della proliferazione microbica.

L'efficacia della tecnica EMA nel prolungare la *shelf-life* è legata al mantenimento della giusta atmosfera all'equilibrio, oltre che, ovviamente, dalla qualità della materia prima di partenza, dall'igiene durante la manipolazione e il confezionamento e dalla temperatura di conservazione. La miscela di gas da utilizzare con i vegetali freschi deve necessariamente contenere una certa quantità di ossigeno (almeno il 3%), per evitare l'instaurarsi di condizioni anaerobiche fermentative che favoriscono la produzione di sostanze che conferiscono odori spiacevoli oltre che favorire la proliferazione di pericolosi batteri patogeni. Generalmente si utilizzano concentrazioni di ossigeno e di anidride carbonica variabili a seconda della o delle specie vegetali confezionate; esistono inoltre prove dell'efficacia di elevate concentrazioni di solo ossigeno nell'inibire sia l'instaurarsi di fenomeni fermentativi che l'imbrunimento enzimatico. Il materiale di confezionamento da utilizzare deve, come già accennato, essere abbastanza permeabile da garantire un passaggio controllato dei gas, e deve essere scelto in base al tasso di respirazione dello specifico vegetale che si vuole confezionare, alla sua massa nella confezione e alla superficie della stessa esposta allo scambio gassoso con l'atmosfera. Bisogna ricordare inoltre che la temperatura di stoccaggio influenza non solo il tasso di respirazione del vegetale ma anche la permeabilità dei materiali di confezionamento. Purtroppo il reperimento di tali materiali non è agevole, anche se in letteratura è possibile trovare indicazioni riferite a particolari prodotti di IV gamma (tabella 2.1). Non bisogna trascurare i fenomeni traspirativi che determinano la perdita di acqua dai tessuti vegetali, con conseguente avvizzimento degli stessi e formazione di condensa all'interno della confezione. È quindi necessario utilizzare film plastici con bassa permeabilità al vapore acqueo e strato interno "antifog", che impedisce la formazione di condensa.

VEGETALE	MATERIALE DI CONFEZIONAMENTO
Patate sbucciate, intere o a fette	LD-PE 50 µm PA/PE 70-100 µm
Carote grattugiate	PP-O 40 µm PP-O microforato PE/EVA/PP-O 30-40 µm
Carote sbucciate a fette	LD-PE 50 µm
Cavolo cinese e cavolo bianco in pezzi	PP-O 40 µm PE/EVA/PP-O 30-40 µm
Cipolla tagliata	PP-O 40 µm PA/PE 70-100 µm

Tabella 2.1 Film plastici adatti al confezionamento di prodotti vegetali freschi

PARTE SPERIMENTALE

Un approccio matematico è necessario per determinare il confezionamento più idoneo per i vegetali di quarta gamma in EMA. Il mantenimento di una certa EMA all'interno della confezione dipende dai quozienti respiratori (che dipendono dal tipo di prodotto, dalla temperatura di conservazione, dallo stadio vegetativo, dalle manipolazioni), dai coefficienti di trasmissione dei gas del film (O_2 e CO_2), dalle dimensioni della superficie della confezione esposta agli scambi gassosi, dalla quantità di prodotto (14,19,20).

In questo lavoro si sono volute sperimentare due tecniche di determinazione dei coefficienti respiratori; un sistema, denominato statico o chiuso, e l'altro denominato permeabile (14).

Determinati i coefficienti respiratori a 6 °C, si è passati alla determinazione dei coefficienti di trasmissione del film di confezionamento, tramite l' equazione dello stato stazionario, proposta da Solomos (34).

E' stato quindi realizzato un confezionamento in EMA per carciofo spinoso sardo sgambato e tornito, con diverse quantità di prodotto all'interno delle confezioni e monitorate le composizioni dei gas durante il periodo di conservazione a diverse temperature (3 e 6°C).

Per ciò che attiene il rischio microbiologico, esso è rappresentato principalmente dai cosiddetti patogeni emergenti psicrotrofi (*Listeria monocytogenes, Yersinia eneterocolitica, Aeromonas hydrophila*), insieme ai patogeni indicatori della gestione sia delle pratiche colturali che della manipolazione del prodotto (*E. coli, Salmonella, Shigella, Staphylococcus Aureus).* Si tratta tuttavia di microflora transitoria (10), quindi eliminabile con adeguate operazioni di lavaggio e sanificazione (32,35), e osservando le buone pratiche di lavorazione.

Sono state effettuate le analisi microbiologiche a 7 e 10 gg. per verificare la salubrità del prodotto, monitorando i microrganismi d'interesse, secondo quanto proposto dalla legislazione Francese e da diversi autori (in Italia ancora non esiste una legislazione di riferimento circa i limiti microbiologici per la IV gamma) (3,7,10,12,15,17,21,24,25).

Misura dei quozienti respiratori.

Metodo chiuso o statico

Con questo metodo, in un contenitore di volume noto viene posta una certa quantità di prodotto, in atmosfera ordinaria. Il contenitore è chiuso ermeticamente e dotato di un setto per consentire la misura della composizione gassosa dopo un certo tempo. Preventivamente alla chiusura della giara, è stato misurato il volume dello spazio di testa, quindi si è proceduto come segue: un capolino spuntato e ripulito dalle brattee esterne è stato lavato in soluzione clorata con contenuto di cloro attivo di 110 ppm, risciacquato in acqua potabile, asciugato e quindi messo in giara di vetro ermeticamente chiusa, dotata di setto. Dopo 2 ore in condizioni di refrigerazione (6 °C) e luce artificiale, è stata misurata la percentuale di CO_2 e di O_2 presente, e calcolata la percentuale di ossigeno consumato e la percentuale di CO_2 prodotta. La misura è stata effettuata su 3 campioni, con un analizzatore di miscele di gas Combicheck 9800-1 PBI Dansensor, come media delle misure, che rappresenta la media aritmetica ponderata rispetto alla quantità di prodotto nella confezione.

Metodo permeabile

Con questo metodo, una confezione di dimensioni note viene riempita con una certa quantità di prodotto. Vengono determinate le concentrazioni di O_2 e/o CO_2 all'equilibrio e tramite un bilancio di massa vengono stimati i coefficienti respiratori (14). Nel nostro caso il prodotto lavorato come sopra è stato posto in vaschette di polistirolo sigillate con un film con coefficiente di trasmissione dell'ossigeno noto, con 2 capolini per vaschetta, in atmosfera ordinaria. Per il confezionamento è stata utilizzata una confezionatrice Reepack Reetray. Sono state misurate le concentrazioni di O_2 nelle confezioni giornalmente per 7 giorni, con uno strumento Combicheck 9800-1 PBI Dansensor. Raggiunto lo stato di equilibrio (±0,5% v/v O_2 in 3 misure successive), è stata determinato il quoziente respiratorio, espresso come consumo di ossigeno.

Determinazione dei coefficienti di trasmissione del film di confezionamento

Determinati i quozienti respiratori, si è passati a calcolare il coefficiente di trasmissione dell'ossigeno e della CO_2 per un *packaging* di dimensioni volute, con 250 e 330g di prodotto, con una atmosfera di equilibrio del 5% di O_2 e 5% di CO_2 (19,20).

Analisi microbiologiche

Le analisi microbiologiche hanno riguardato microrganismi e classi microbiche di interesse per la quarta gamma, secondo quanto stabilito dalla legislazione Francese (3,7), e dai lavori di diversi autori (10,12,15,17,21,24,25). Sono stati ricercati i microrganismi indicatori e i patogeni più comunemente riscontrati in questi prodotti. L' analisi condotte sono esemplificate nelle tabelle seguenti:

Classi microbiche	*Terreni di coltura*	*Incubazione (T / t)*
Carica mesofila aerobia	Plate Count Agar (Oxoid)	30°C / 72 h
Carica psicrofila aerobia	Plate Count Agar (Oxoid)	4°C / 24 h
Staphylococcus aureus	Baird Parker Agar (Oxoid)	37°C / 48 h
Coliformi totali	Violet Red Bile Agar + MUG (Oxoid)	37°C / 48 h
E. coli	Violet Red Bile Agar + MUG (Oxoid)	37°C / 48 h
Salmonella spp.	Oxoid Salmonella rapid test	
Listeria monocytogenes	Oxoid Listeria rapid test	

Tabella 2.3 Microrganismi oggetto di analisi

	n	**c**	**m**	**M**
Carica mesofila aerobia (al consumo)	5	2	$5x10^6$	$5x10^7$
Carica Psicrofila aerobia	5	2	*	*
Staphylococcus aureus	5	2	10^2	10^3
Coliformi totali	5	2	*	*
E.coli	5	2	10^2	10^3
Salmonella spp.	assente in 25g			
Listeria monocytogenes	assente in 25g			

Tabella 2.4 Limiti microbiologici

- Non sono riportati limiti di legge sulla IV gamma per queste classi microbiche.
- **n=** n° di campioni prelevati per lotto **c=**n° max di campioni compresi tra **m** e **M**
- **m=** n° di germi considerato accettabile **M=** n° di germi considerato inaccettabile

Valutazioni sensoriali

Il prodotto è stato oggetto di valutazione sensoriale da parte di un gruppo di assaggiatori. Sono state valutati l'aspetto generale, la presenza di imbrunimenti, eventuali odori e sapori anomali rispetto al controllo (capolini di carciofo spinoso sardo fresco).

RISULTATI

Coefficienti respiratori di carciofo minimamente trattato e scelta del packaging

Nelle tabelle seguenti sono riassunti i dati sperimentali e le determinazioni relative alla progettazione del packaging in EMA, per due tipologie di prodotto (vaschetta da 250 e 330 g, 23x14,5 cm), ricavati secondo i due metodi, statico e permeabile, utilizzati:

	RO_2 (mlO_2/hr-Kg)	A (mxm)	Quantità (Kg)	**O_2TR (ml/m^2/24h-atm)**	$\%O_2$ eq. target	$\%CO_2$ eq. target
Metodo statico	103.6	0.23x0.145	0.250	**4884**	5	5-10
	103.6	0.23x0.145	0.330	**6447**	5	5-10

	RO_2 (mlO_2/hr-Kg)	A (mxm)	Quantità (Kg)	**O_2TR (ml/m^2/24h-atm)**	$\%O_2$ eq. target	$\%CO_2$ target
Metodo permeabile	274	0.23x0.145	0.250	**12.860**	5	5-10
	274	0.23x0.145	0.330	**17.052**	5	5-10

Tabella 2.5 Quozienti respiratori

E' stato riportato il solo coefficiente respiratorio espresso come consumo d' ossigeno, calcolato con i due metodi. In letteratura sono riportati i limiti di entrambi i metodi di determinazione dei coefficienti respiratori e le variabili da cui dipende l'accuratezza della misura; i risultati sono sostanzialmente diversi. In particolare il metodo statico sembra sottostimare il coefficiente respiratorio, si rivela poco adatto per alti livelli di respirazione (14), come nel caso del carciofo. Si è perciò deciso di sperimentare per il confezionamento in EMA un film OPP/PE microforato con strato antifog, termosaldabile, con O_2TR di 12.000 ml/m^2/24h-atm, fornito dalla MASTERPACK S.p.A.. I carciofi raccolti in giornata sono stati sgambati e torniti, sanitizzati mediante agitazione in una soluzione clorata con cloro attivo 110 ppm (32-35), risciacquati in acqua potabile, quindi sottoposti a un *dipping* in soluzione antiossidante con 0,2% ac. citrico, 1% ac. ascorbico, per 5 minuti, per contenere l'imbrunimento enzimatico (2,11,32,35). I capolini sono stati quindi asciugati con carta e confezionati.

Il prodotto è stato posto in vaschette di polistirolo espanso e confezionato con una atmosfera interna del 5%O2, 5%CO2, 90%N2 con una confezionatrice Reepack Reetray, conservate a due diverse temperature (3 e 6 °C), con luce artificiale L:24-D:0.

Andamento delle concentrazioni di gas all'interno delle confezioni

Per 10 giorni sono state monitorate, con uno strumento Combicheck 9800-1 PBI Dansensor, le composizioni gassose all'interno delle confezioni contenenti 250 e 330g di prodotto conservate a 3 e 6 °C. I risultati sono riportati nei seguenti grafici:

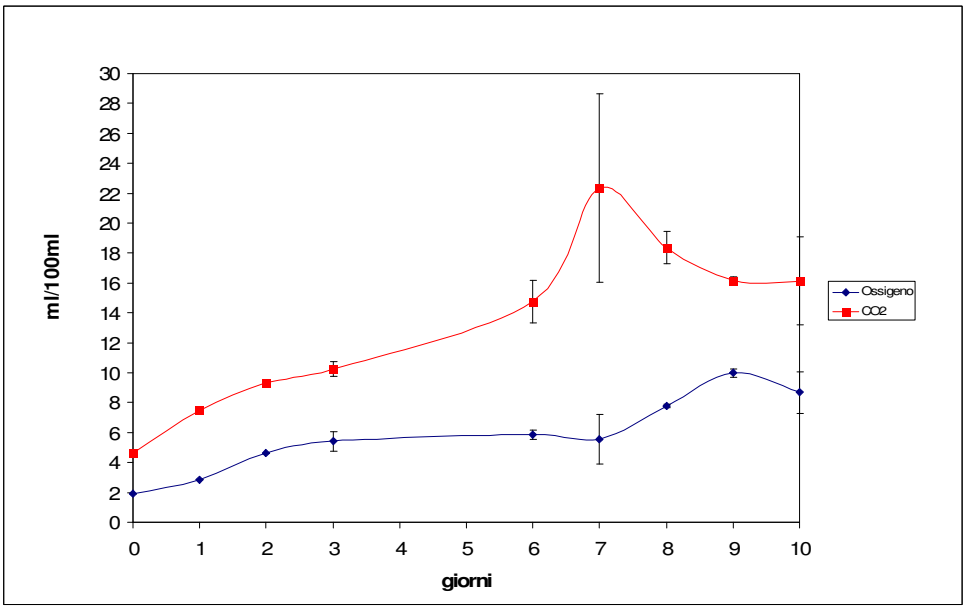


Figura 2.2 Carciofo IV gamma. Variazione della concentrazione di CO2 e O2 (95% livello di confidenza (a=0,05) in vaschette con 250g di prodotto (3 capolini) a 3°C

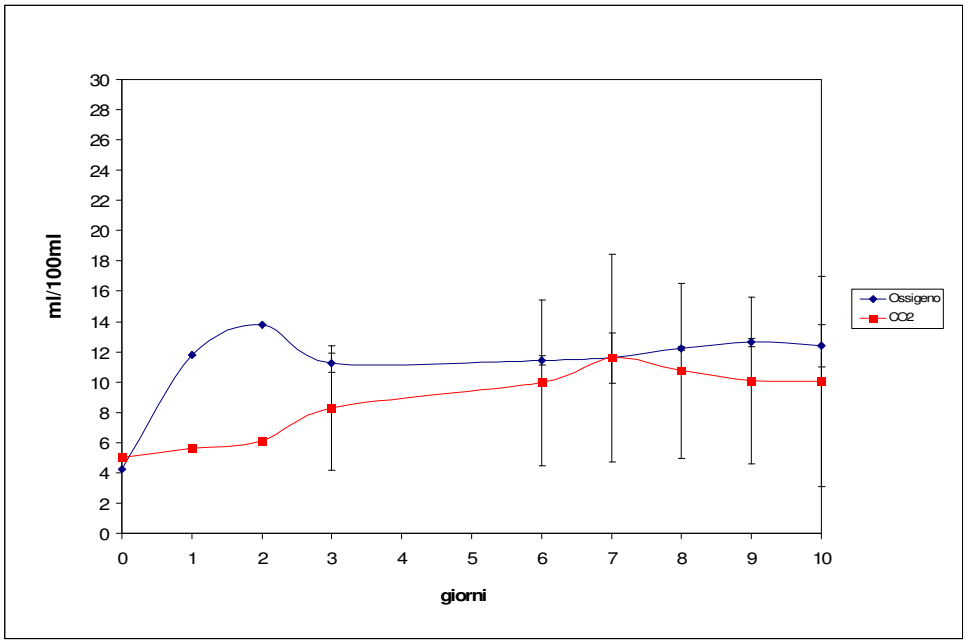


Figura 2.3 Carciofo IV gamma. Variazione della concentrazione di CO2 e O2 (95% livello di confidenza (a=0,05) in vaschette con 330g di prodotto (4 capolini) a 3°C

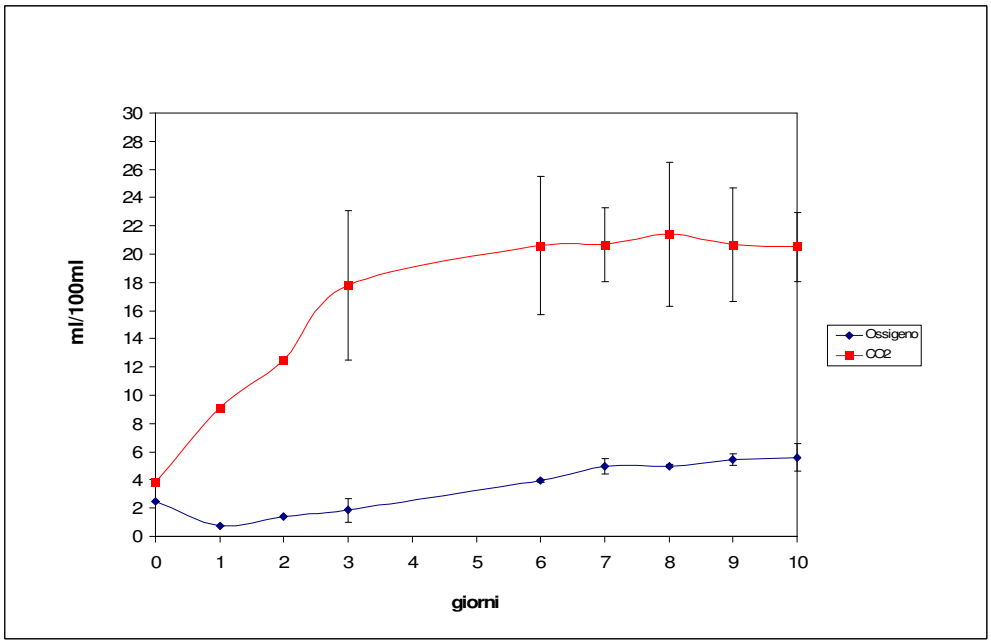


Figura 2.4 Carciofo IV gamma. Variazione della concentrazione di CO2 e O2 (95% livello di confidenza (a=0,05) in vaschette con 250g di prodotto (3 capolini) a 6°C

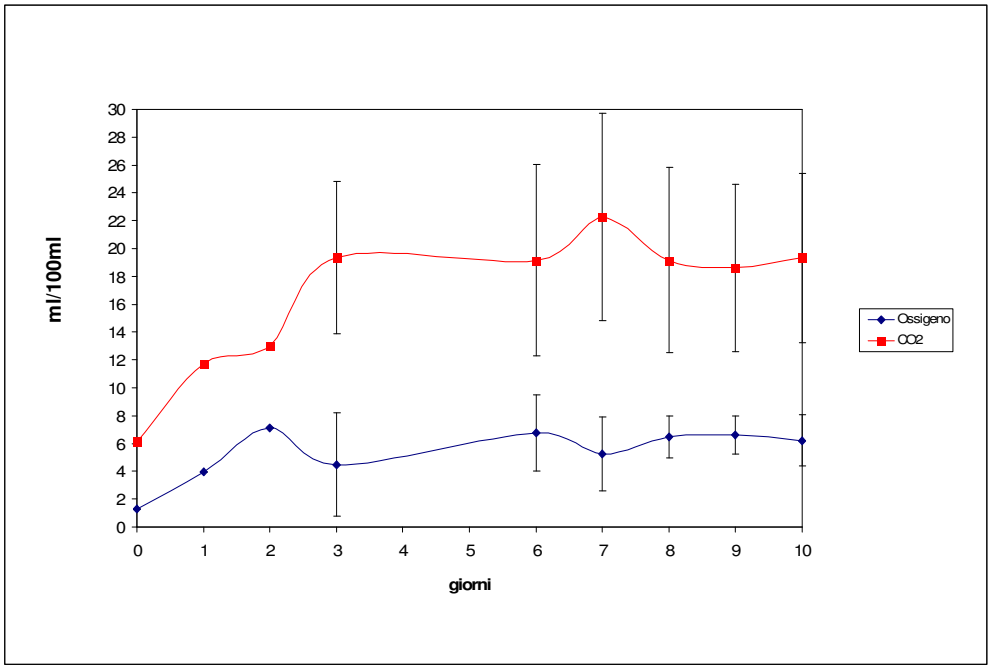


Figura 2.5 Carciofo IV gamma. Variazione della concentrazione di CO2 e O2 (95% livello di confidenza (a=0,05) in vaschette con 330g di prodotto (4 capolini) a 6°C

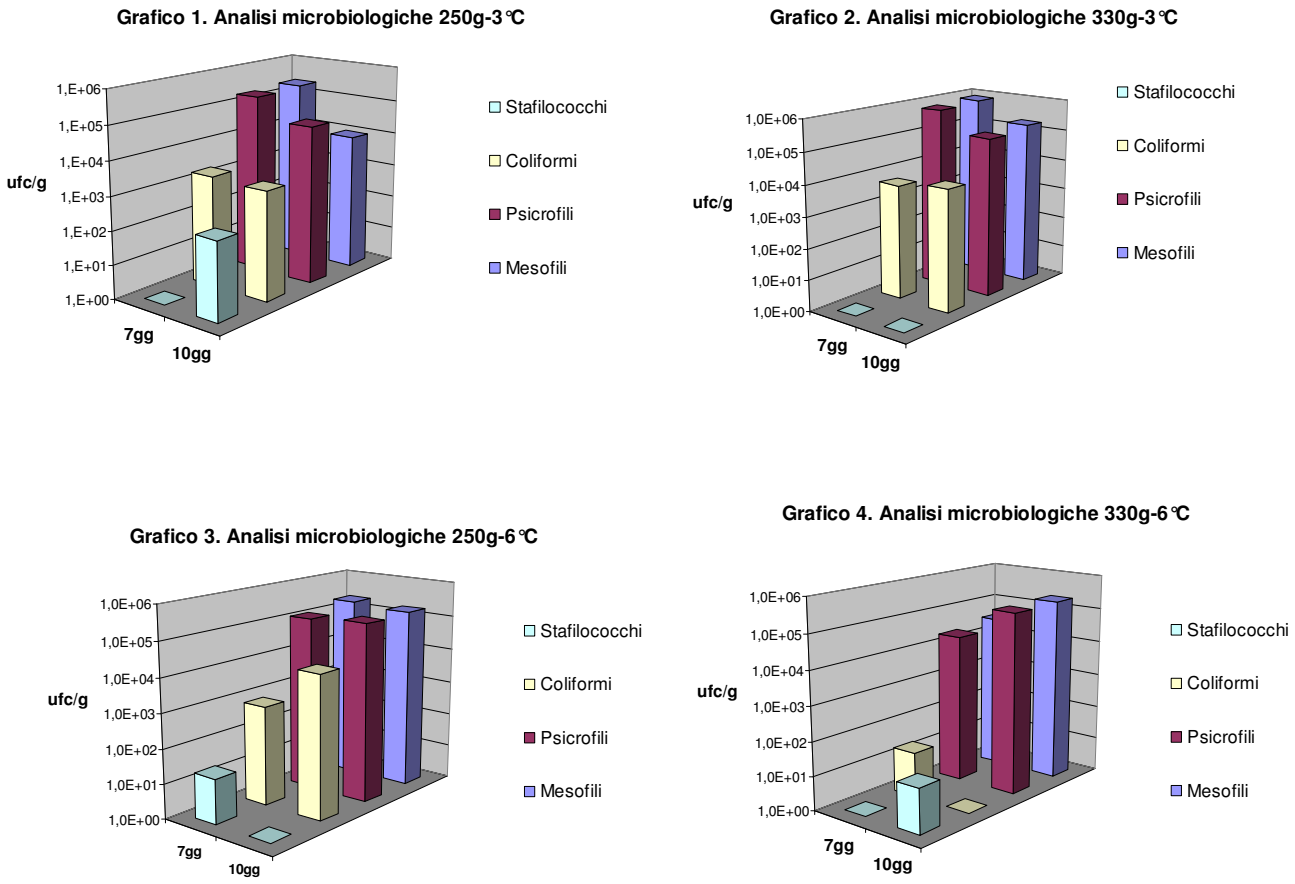
Come mostrano i grafici, per l' O_2, lo stato stazionario è stato raggiunto dopo il 3° giorno e mantenuto, con leggere variazioni, in media, fino al 10°giorno. La concentrazione di ossigeno si è mantenuta attorno al 5% nelle confezioni da 250 stoccate a 6°C, nelle confezioni da 330g conservate a 3°C e nelle confezioni con 250g mantenute a 3°C, dove a raggiunto il 10% a 10gg. Nelle confezioni da 300g conservate a 6°C all'equilibrio si sono raggiunti livelli di

ossigeno >10%. La concentrazione di anidride carbonica si è attestata su valori relativamente alti.

Analisi microbiologiche

Nei grafici seguenti sono illustrati i risultati delle analisi microbiologiche effettuate. A 10 giorni tutti i campioni analizzati rispettavano i valori limite per le classi e i microrganismi target. I coliformi totali si attestano tra 10^3 e 10^4 ufc/g nelle confezioni da 250 e 330 g conservate a 3°c e da 250 g conservate a 6°C; tuttavia, conforta l'assenza di *E.coli*, germe indicatore di contaminazione fecale, oggi ritenuto unanimemente più affidabile, in quanto ad habitat intestinale, rispetto alla eterogenea classe dei coliformi (10,15). Anche *Listeria monocytogenes* risulta assente; gli psicrofili totali si sono mantenuti su livelli di 10^4-10^6 ufc/g.

.



Salmonella spp. e *Listeria moncytogenes* assenti in 25g di prodotto.
Escherichia coli assente.

Figura 2.6 Analisi microbiologiche

Valutazioni sensoriali

I problemi che si riscontrano sui carciofi riguardano la discolorazione bruna in corrispondenza delle superfici di taglio, dovuta all'azione di enzimi polifenolossidasi, e la formazione di odori e sapori anomali, in seguito a respirazione anaerobia e/o attività di microrganismi (2,11,17). Il confezionamento con bassa concentrazione di ossigeno, unitamente all'immersione in soluzione antiossidante, ha contenuto l'imbrunimento enzimatico a livelli giudicati soddisfacenti, nei campioni conservati per 7 e 10 giorni. Anche la perdita d'acqua dai tessuti è stata minima, grazie alla elevata umidità all'interno delle confezioni. In tutti i casi i campioni non presentavano odori anomali e all'assaggio risultavano accettabili.

Figura 2.7 Carciofo di IV gamma dopo 10gg. di conservazione a 3°C

CARCIOFO V GAMMA

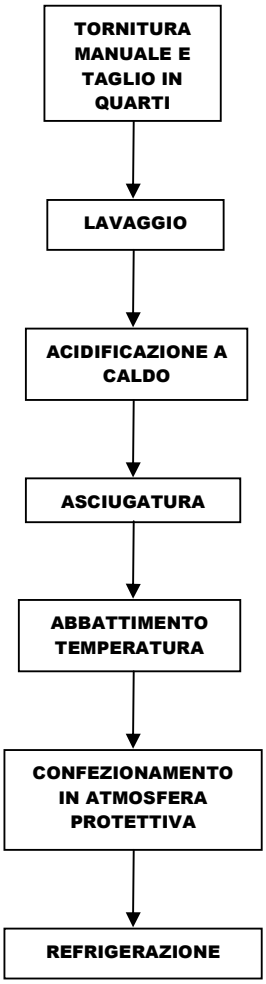


Figura 2.8 Diagramma di lavorazione del carciofo di V gamma

In seguito alla sperimentazione sulla quarta gamma, si è prospettata la possibilità di proporre anche una quinta gamma di carciofo. La stessa è stata pensata come alternativa all'utilizzazione del carciofo di seconda scelta non adatto alla produzione della IV gamma. Per la sperimentazione è stato seguito il diagramma sopra riportato (Fig 2.8). Come si vede, si tratta di un prodotto sottoposto a cottura in soluzione acida e confezionato in atmosfera protettiva. L'operazione caratterizzante il processo è la cottura con soluzione acidificante, operazione che produce 2 tipi di effetti fondamentali:

- La denaturazione e quindi la perdita di attività degli enzimi
- L'abbattimento della carica microbica

Per la messa a punto del processo, si è ritenuto necessario valutare i seguenti punti:

- Tempo e composizione della soluzione di cottura
- Composizione dell'atmosfera protettiva
- Analisi microbiologiche a 15 giorni sul prodotto refrigerato
- Valutazione sensoriale dei diversi campioni

Per la produzione della quinta gamma sono stati utilizzati anche gambi di carciofo ripuliti degli strati esterni.

Le operazioni di tornitura e lavaggio dei capolini sono state effettuate come per la quarta gamma. Dalle prove di cottura (5 minuti, 100 °C) è stata individuata la composizione in acidi della soluzione ritenuta accettabile riguardo all'effetto finale sul prodotto, che consisteva in capolini torniti e ridotti in quarti e metà. Esclusa la soluzione con solo acido acetico o sola acqua, tutte le altre avevano un pH di sicurezza riguardo alla proliferazione di patogeni (< 4.6). Tutti i campioni, numerati da 1 a 15 e indicati in figura 2.9, sono stati confezionati in atmosfera ordinaria e film plastico barrierato.

1 ac. citrico 0,3% ac. ascorbico 1%	**2** ac. citrico 0,2% ac. ascorbico 1%	**3** ac. lattico 0,1%	**4** ac. ascorbico 0,1%	**5** ac. ascorbico 1%
6 acqua	**7** ac. citrico 0,15% ac. acetico 0,15%	**8** ac. citrico 0,1%	**9** ac.lattico0,15% ac.acetico0,15%	**10** ac.citrico0,15% ac.lattico0,15%
11 ac. citrico0,15% ac. lattico0,15% ac.acetico0,15%	**12** ac.citrico0,1% ac.ascorbico1%	**13** ac.citrico0,2%	**14** ac. acetico 0,1%	**15** ac. citrico 0,3%

Figura 2.9 Aspetto dei campioni immersi in diverse soluzioni acide

La disuniformità dei campioni, che presentavano danni da freddo, e l'avanzato stato di fioritura del materiale di partenza, con vistoso pappo e colorazione viola delle bratte interne, non ha consentito di valutare in maniera accettabile i diversi campioni. Anche l'assaggio, effettuato a 24 ore dal confezionamento, dal quale è risultato piu gradito il campione 4, che ha dato comunque utili indicazioni, dovrà essere ripetuto con materiale omogeneo e più volte in tempi diversi di stoccaggio.

Le analisi microbiologiche hanno riguardato il carciofo non trattato (tal quale), quello tornito e lavato e quello trattato, confezionato in vaschette con diverse miscele di gas.

I campioni trattati sono stati analizzati anche dopo 15 giorni dal trattamento. Sono state considerate macroclassi microbiche (lieviti, muffe, batteri), anaerobi e aerobi, mesofili e psicrofili. Le analisi sono state di tipo preliminare e necessarie al proseguimento delle attività sperimentali.

Sono stati utilizzati i seguenti terreni per le conte batteriche:

PCA (incubato a 30°C) per la conta mesofila totale

PCA (incubato a 5°C) per gli psicrofili

PCA immersione (incubato a 30°C) per mesofili anaerobi

Rosa Bengala (incubato a 25 °C) per muffe e lieviti

	CAMPIONE	Conta totale mesofili (UFC/g)	Conta totale psicrofili (UFC/g)	Conta totale anaerobi (UFC/g)	Lieviti e muffe (UFC/g)
Tempo 0	Tal quale	16.400.000	282.000	28.000.000	6.870
	Tornito e lavato	1.070.000	968.000	1.380.000	400
	Dopo blanching	0	0	0	5

Tabella 2.6 Conte batteriche sul carciofo tal quale, tornito e lavato e dopo scottatura

Come evidenziato dalla tabella 2.6, relativa alla prima prova effettuata, il carciofo tal quale risulta abbastanza inquinato in partenza. Dopo l'operazione di lavaggio si ha un abbattimento della carica microbica, che viene ridotta a meno di 10 ufc/g dopo il *blanching*. A 15 giorni dal confezionamento, la cariche batteriche risultano essere sempre inferiori a 10^2 ufc/g. Le successive analisi hanno confermato questo dato.

I dati microbiologici hanno indicato che una concentrazione di CO_2 del 30% all'interno delle confezioni era sufficiente a contenere la proliferazione microbica a 15 gg dal trattamento.
Per quanto riguarda i gambi di carciofo di V gamma, dalle prove preliminari effettuate, appaiono adatti a questo tipo di lavorazione.

Figura 2.10 Carciofo di V gamma confezionato in MAP dopo 1 mese di conservazione a 6°C

Le analisi microbiologiche sono state estese, per le stesse classi microbiche, fino a 40 gg. dalla trasformazione. Tutte le letture si attestavano tra valori compresi tra 10^2 e 10^3 ufc/g. All'assaggio, i campioni risultavano accettabili.

CONCLUSIONI

La Progettazione di un packaging per vegetali di IV gamma passa per la determinazione del quoziente respiratorio del vegetale, espresso come consumo di ossigeno o produzione di CO_2 (18,19) .

Il calcolo dei coefficienti presenta diversi problemi (14), essendo influenzato: dal metodo di misura, dalle manipolazioni che il prodotto subisce, dalla disuniformità del prodotto, dalla composizione in gas dello spazio di testa, dal metabolismo della microflora contaminante. Le stesse misure della composizione di gas condizionano, sottraendo gas dallo spazio di testa, la respirazione.

La respirazione del vegetale è il fenomeno principale da tenere sotto controllo per estendere la shelf-life di questa tipologia di prodotti, ed è influenzata principalmente dalla temperatura di conservazione (4).

Noti il coefficiente respiratorio, le dimensioni della confezione e la quantità di prodotto da porre nelle confezioni, è possibile calcolare il coefficiente di trasmissione all' O_2 e alla CO_2 necessario per mantenere una data atmosfera modificata di equilibrio (18,19).

L'ottenimento di una data EMA passa necessariamente per una sperimentazione sistematica sul prodotto da confezionare, soprattutto per quanto riguarda il calcolo dei coefficienti respiratori (14); tanto più accurata sarà la misura, tanto più esatto sarà il calcolo dei coefficienti di trasmissione dei gas che il film deve possedere per mantenere una certa EMA.

Il metodo permeabile risulta, per il carciofo, più adatto per la determinazione dei coefficienti respiratori, rispetto al metodo statico,. La variabilità nell'evoluzione della EMA all'interno delle confezioni è da imputare anche alla variabilità del prodotto (dimensioni dei capolini, stadio fenologico, lavorazione, igiene etc.), per cui risulta difficile ottenere dei coefficienti respiratori accurati per tipologia di prodotto. Il metodo consente comunque di orientare la scelta del film tra bassa, media e alta permeabilità.

Il packaging messo a punto nel presente lavoro ha permesso di ottenere un prodotto con una shelf-life di almeno 10 gg. in condizioni di refrigerazione, contenendo la proliferazione microbica e l'imbrunimento enzimatico, e con caratteristiche sensoriali soddisfacenti.

E' stata messa a punto una tecnologia di preparazione per la quinta gamma, che rappresenta una alternativa nella valorizzazione del materiale di seconda scelta per le aziende. La *shelf-life* è stata valutata in 40gg a partire dalla preparazione. Non si esclude una *shelf life* di durata maggiore, ma sono necessari ulteriori approfondimenti.

I RAVIOLI

Scopo del presente lavoro è lo studio e la risoluzione delle problematiche legate alla produzione ed alla conservazione dei ravioli e più in generale delle paste fresche.

Figura 2.11 Ravioli confezionati

La tecnologia di produzione del prodotto prevede le seguenti fasi:

- l'impasto e la formatura della sfoglia, composta da semola di grano duro, uova, acqua e sale mediante un'impastatrice sfogliatrice
- La preparazione del ripieno composto da ricotta gentile ovina non pastorizzata, tuorli d'uovo, farina tipo 00, spinaci, formaggio grattugiato, noce moscata
- La formatura mediante una raviolatrice che assembla il prodotto in formati da 6 ravioli ciascuna
- La pastorizzazione
- L'abbattimento rapido della temperatura
- Il confezionamento in atmosfera modificata o in atmosfera ordinaria

Analisi chimico-fisiche e microbiologiche

I campioni oggetto d'analisi sono stati prelevati alla fine di ciascuna fase sopraindicata e suddivisi in due unità campionarie e comprendenti:

- ravioli tal quale all'uscita dalla raviolatrice
- ravioli pastorizzati
- ravioli pastorizzati e refrigerati (uscita abbattitore)
- ravioli confezionati sia in atmosfera modificata che in atmosfera ordinaria

Le analisi microbiologiche sono state effettuate sui ravioli tal quali, sul ripieno e sulla sfoglia, secondo quanto previsto dalla C.M. 32/85. Il campionamento è stato effettuato su un lotto di produzione e le analisi sono state effettuate a 24h e successivamente ogni 3 giorni sino

al termine della *shelf life*. All'atto della produzione sono state monitorate le varie fasi di lavorazione mediante l'impiego di sonde per la rilevazione della temperatura. Inoltre sulle confezioni in atmosfera modificata è stata seguita l'evoluzione della concentrazione di gas.

Le analisi microbiologiche hanno riguardato: carica batterica totale, coliformi, stafilococchi, clostridi, lieviti e muffe; sono stati inoltre misurati i parametri di pH, a_w e umidità

PARTE SPERIMENTALE

Per semplicità di esposizione i risultati delle analisi verranno esposti in base alle fasi di lavorazione e al tipo di confezionamento (atmosfera ordinaria o MAP).

Analisi delle fasi di lavorazione

Il trattamento termico di pastorizzazione dei ravioli è una fase importante della produzione; esso ha lo scopo di eliminare soprattutto le forme vegetative di microrganismi patogeni e alteranti presenti nel prodotto. Per ottenere questo risultato si applicano precise combinazioni di tempo e temperature, come verrà di seguito esposto. I trattamenti termici sono stati seguiti impiegando sensori per la misura della temperatura e rilevando i valori sia sulla superficie che all'interno dei ravioli. Per il ripieno si rilevano temperature comprese tra 70°C e 79°C per 3 minuti. Sulla superficie invece l'intervallo di tempo è di 3' e 30" con temperature massime che oscillano tra 80 e 85°C (Figura 2.12).

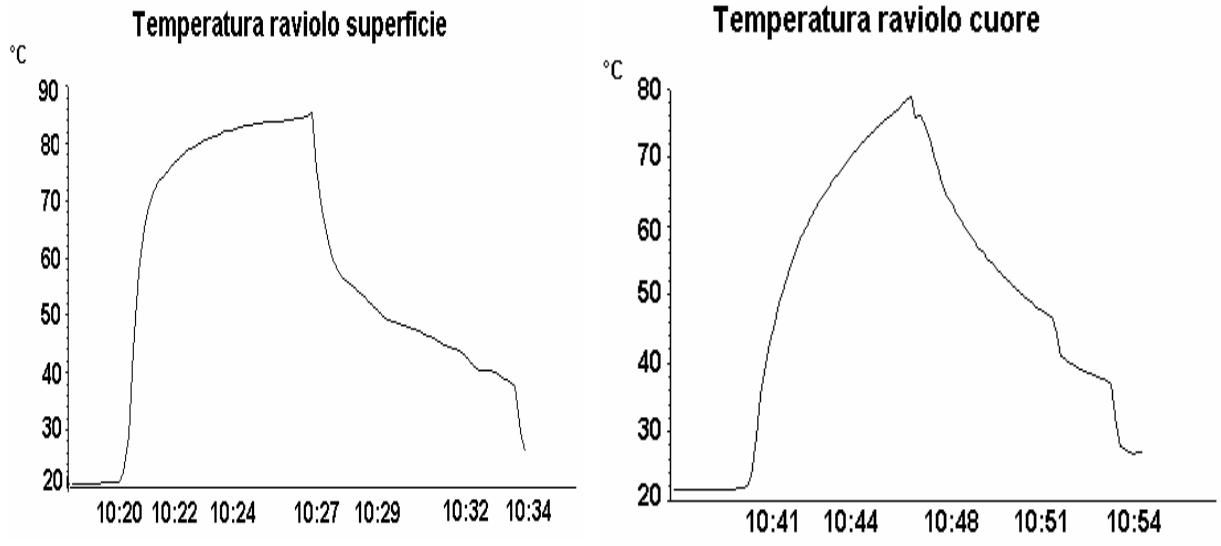


Figura 2.12 Curve di temperatura pastorizzazione

Per quanto riguarda le analisi microbiologiche, sui ravioli tal quali si osservano due riduzioni decimali della carica microbica in seguito al trattamento di pastorizzazione.

Anche la sfoglia segue questo andamento. Diverso è il discorso per il ripieno nel quale si registra una carica microbica media prossima a 10^4 ufc/g. Con la pastorizzazione vengono eliminati i coliformi, i lieviti, le muffe ed i batteri lattici, mentre la CBT e gli stafilococchi subiscono due sole riduzioni decimali (Figura 2.13).

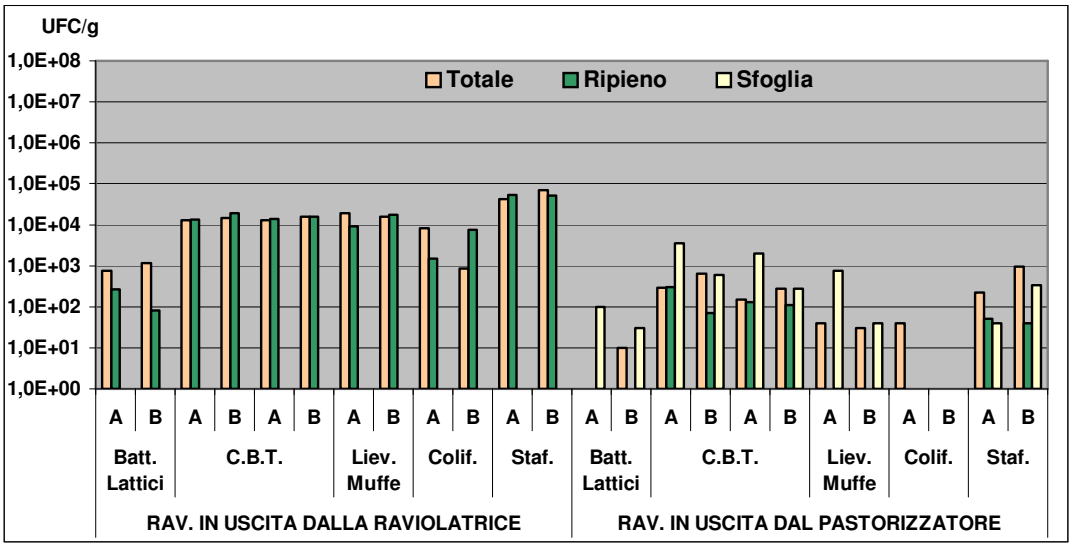


Figura 2.13 Carica microbica nelle diverse fasi della lavorazione

Nella fase di abbattimento della temperatura si riscontra un incremento della carica microbica, ad eccezione del ripieno, che mantiene una carica microbica pressoché costante.

Analisi dei prodotti finiti confezionati in atmosfera ordinaria

La circolare ministeriale n°32 del 03/08/1985 inquadra i ravioli come paste farcite artigianali fresche confezionate e non. Sempre la C.M. 32/85 all'allegato 1 ha fissato i seguenti limiti per le caratteristiche microbiologiche di questi prodotti:

- Conta Batterica Totale m=10^5 e M=10^6 ufc/g
- *Staphilococcus Aureus* m=10^3 e M=10^4 ufc/g
- *Clostridium Perfringens* m=10^2 e M=10^3 ufc/g
- *Salmonella* deve essere assente in 25g

dove m è la soglia limite al di sotto della quale tutti i risultati sono considerati soddisfacenti, mentre M è la soglia limite di accettabilità al di sopra della quale i risultati non vengono più considerati soddisfacenti.

I ravioli sono stati confezionati in atmosfera ordinaria in vaschette e pellicola in PVC. Ogni confezione contiene 24 ravioli, pari a 500g. Le analisi sono state eseguite a 1,3,7,10,14 giorni dalla produzione.

Al primo tempo di analisi nei ravioli tal quali si rileva la presenza delle seguenti classi microbiche:

- Conta Batterica Totale: valori medi di $4.0x10^2$ ufc/g
- Batteri lattici: valori medi di $2.0x10^1$ ufc/g
- Lieviti e muffe: valori medi di $4.5x10^1$ ufc/g
- Coliformi: assenti
- Stafilococchi: valori medi di $8.0x10^1$ ufc/g
- Clostridi: valori inferiori a 30 ufc/g

Anche la sfoglia segue l'andamento dei ravioli tal quali, mentre nel ripieno sono presenti CBT e stafilococchi, ma in misura inferiore, sono invece assenti batteri lattici, lieviti e muffe e coliformi. (Figura 2.14)

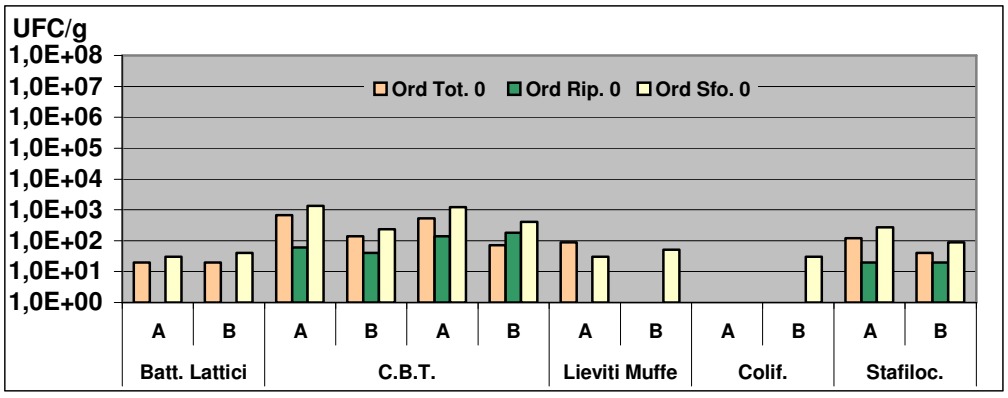


Figura 2.14 Carica microbica al primo tempo di analisi nei ravioli atm. ordinaria

Ai successivi tempi di analisi si nota un progressivo incremento della popolazione microbica, sino a superare i limiti fissati dalla circolare con valori di CBT che variano tra $2.3*10^6$ e $1.4*10^7$ UFC/g (Figura 2.15). Anche in questo caso i valori registrati sulla sfoglia sono simili a quelli dei ravioli tal quali. Il ripieno ha valori di CBT dimezzati rispetto agli altri due campioni, oltre a non fare registrare la presenza di batteri lattici e di coliformi.

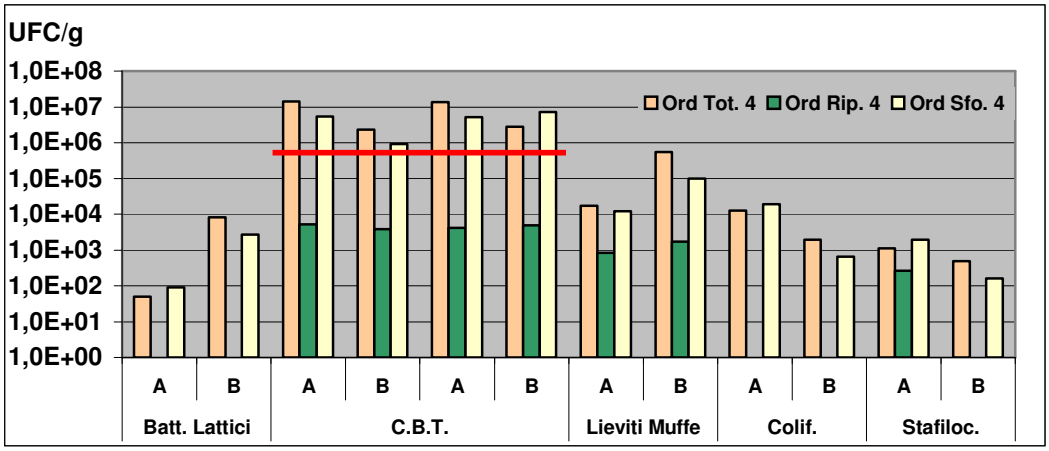


Figura 2.15 - Carica microbica all' ultimo giorno di analisi ravioli atm. ordinaria

La *shelf life* termina al 14° giorno di analisi per il superamento dei limiti di legge, e al 16° giorno di analisi sulla superficie del prodotto compaiono le muffe.

I risultati relativi alle determinazioni chimico-fisiche effettuate mostrano:

- pH 6.30
- Aw compresa tra 0.98 e 0.99
- L'umidità dei ravioli tal quali rimane stabile sul 49%. Per quanto riguarda i componenti invece si assiste ad un passaggio dell'acqua totale dalla sfoglia, che perde rispetto al primo tempo di analisi il 3% di umidità, a favore della sfoglia, che incrementa il suo valore del 4%.

Analisi dei prodotti finiti confezionati in atmosfera modificata

I ravioli sono stati confezionati in atmosfera modificata impiegando vaschette chiuse con film barrierato in polietilentereftalato (PET). In ogni confezione si contano 30 ravioli. Le analisi sono state effettuate a 1,3,7,10,14, 17,21 e 28 giorni dalla produzione. Per questa tipologia di prodotto è stata analizzata anche l'evoluzione della composizione della miscela gassosa all'interno della confezione.

Al primo tempo di analisi nel raviolo totale si rileva la presenza delle seguenti classi microbiche:

- Conta Batterica Totale valori medi di $1.9x10^3$ ufc/g
- Batteri lattici valori medi di $1.0x10^1$ ufc/g
- Lieviti e muffe valori medi di $5.0x10^2$ ufc/g
- Coliformi hanno valori medi di $2.0x10^1$ ufc/g
- Stafilococchi valori medi di 58 ufc/g

- Clostridi valori medi di 30 ufc/g

La sfoglia presenta concentrazioni delle varie classi microbiche superiori rispetto al raviolo tal quale mentre nel ripieno sono presenti, ma in misura nettamente inferiore, mesofili aerobi e stafilococchi, sono invece assenti batteri lattici, lieviti e muffe e coliformi (Figura 2.16).

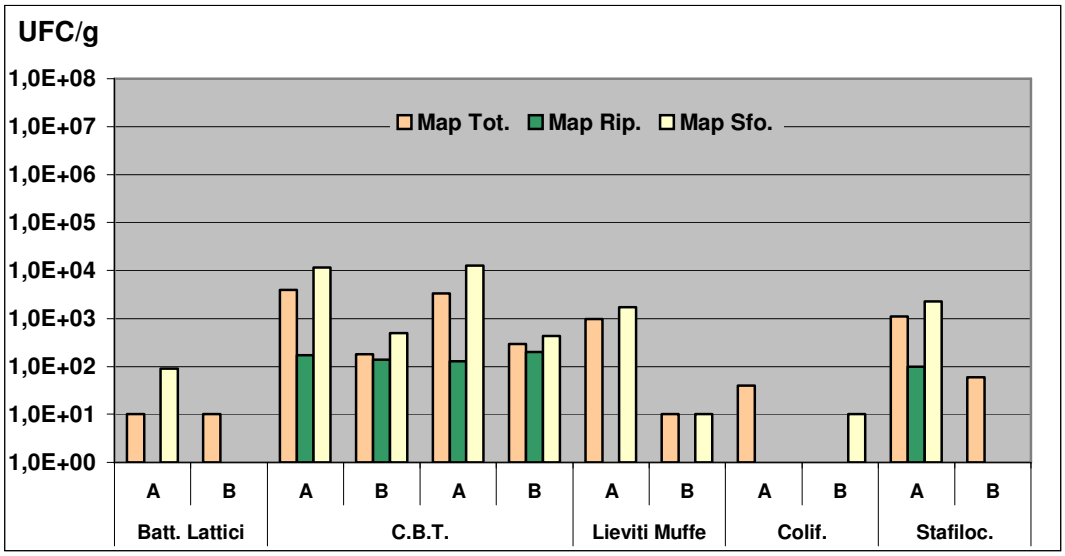


Figura 2.16 - Carica microbica al primo tempo di analisi ravioli atm. protettiva

Ai successivi tempi di analisi si registra una certa stabilità nelle cariche microbiche sino al 17° giorno di analisi, in seguito si assiste ad una crescita marcata ed al 28° giorno di analisi vengono superati i limiti di legge:

Anche nelle componenti del prodotto si è osservato lo stesso fenomeno, con valori più marcati nella sfoglia che nel ripieno (Figura 2.17).

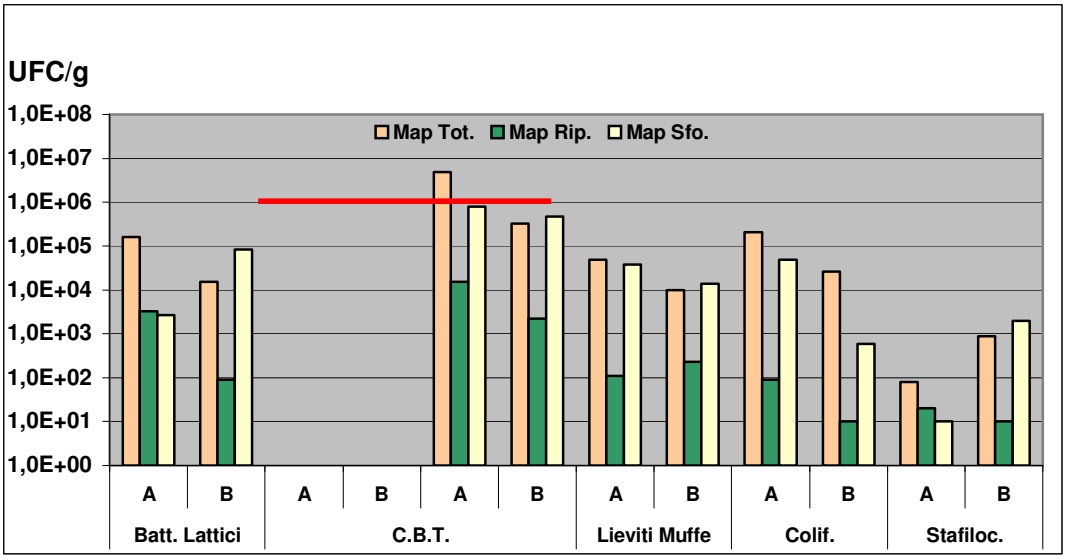


Figura 2.17 Carica microbica all' ultimo tempo di analisi ravioli atm. modificata

Per quanto riguarda la composizione della miscela dei gas presenti nella confezione si rileva una concentrazione di ossigeno che si mantiene stabile per tutta la sperimentazione intorno all'1-1,5%. L'anidride carbonica subisce una leggera diminuzione passando dal 22% al 19%. L'azoto e gli altri gas incrementano la loro concentrazione dal 77 all'80%.
I risultati relativi alle determinazioni chimico-fisiche effettuate mostrano:

- pH 6.30
- a_w compresa tra 0.98 e 0.99
- L'umidità del raviolo totale rimane stabile intorno al 50-51%. Per quanto riguarda i diversi componenti, invece, si assiste ad un passaggio dell'acqua totale dal ripieno, che perde rispetto al primo tempo di analisi il 3% di umidità, a favore della sfoglia, che incrementa il suo valore del 6%.

Alla luce di questi risultati si possono fare le seguenti considerazioni:

- La pastorizzazione deve essere effettuata in modo che al cuore del prodotto si raggiunga una temperatura di 86°C per 2-3 minuti (figura 2.18), altrimenti, come in questo caso, la riduzione della carica microbica ottenuta può non garantire la sicurezza igienico-sanitaria del prodotto oltre che una *shelf life* di lunga durata.

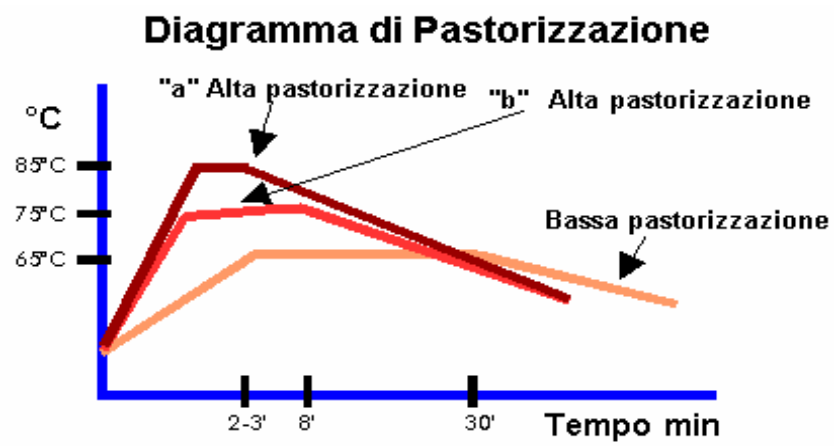


Figura 2.18 Diagramma di Pastorizzazione

- I ravioli in atmosfera modificata hanno una durata commerciale doppia rispetto a quelli confezionati in atmosfera ordinaria. Questo dimostra che la MAP rallenta la crescita di questi microrganismi. Ma per bloccare il loro sviluppo occorre avere concentrazioni di ossigeno inferiori allo 0,2%. I metodi fisici di eliminazione dell'ossigeno non possono garantire queste prestazioni. Questi risultati sono ottenibili con l'impiego di assorbitori di

ossigeno che ne riducono la concentrazione al di sotto dello 0.1%, legando chimicamente l'ossigeno presente nello spazio di testa delle confezioni.

- Occorre seguire scrupolosamente quanto previsto dai manuali di corretta prassi igienica durante la produzione, al fine di ridurre la contaminazione microbica nelle materie prime ed evitare contaminazioni crociate.

Seconda parte: Interventi sul prodotto

La seconda parte del lavoro è finalizzata a risolvere le problematiche legate soprattutto alla fase di pastorizzazione riscontrate nella prima fase della sperimentazione allo scopo di prolungare la *shelf life* del prodotto.

PARTE SPERIMENTALE

I campioni sono stati prodotti e confezionati presso l'azienda, seguendo il protocollo messo appunto in loco dagli operatori della Porto Conte Ricerche. In particolare nel nuovo processo produttivo è stata prolungata la fase di pastorizzazione, eseguendo un doppio passaggio. Questo processo dovrebbe garantire una più alta temperatura al cuore del prodotto e quindi una pastorizzazione più efficace. Tutte le altre fasi di lavorazione sono speculari alla prima parte del lavoro. I campioni analizzati e le tipologie di analisi, sono le stesse della prima parte del lavoro e sono state condotte a cadenza settimanale sino al raggiungimento dei limiti di legge.

RISULTATI

Come nella prima parte del lavoro la fase di pastorizzazione è stata seguita mediante sonde di temperatura. La rilevazione è stata effettuata all'interno del raviolo. La figura 2.19 mostra una curva con due massimi, uno per ciascun passaggio di pastorizzazione. La prima parte della curva ha un andamento simile per tempi e temperature alla figura 2.19 relativa alla prima parte del lavoro e al primo passaggio;

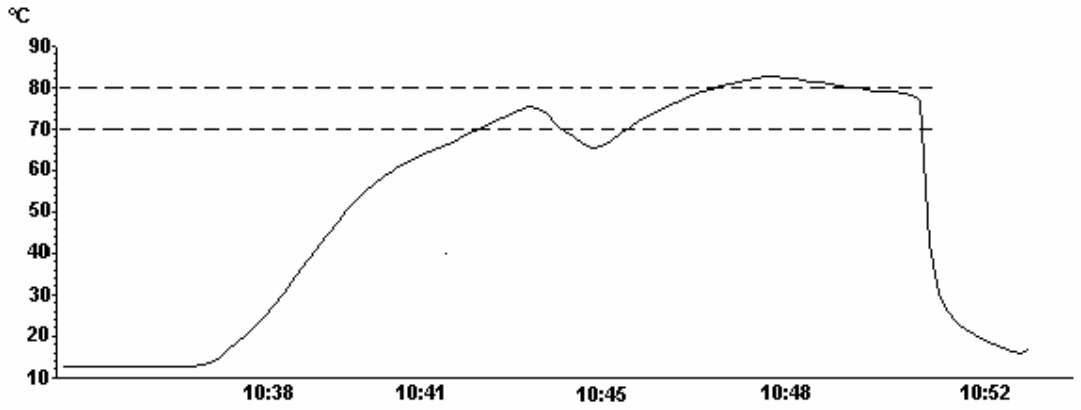


Figura 2.19 Curva di temperatura di pastorizzazione raviolo interno

la seconda parte della curva invece è relativa al secondo passaggio in pastorizzatore. Si nota come solo dopo il secondo passaggio il prodotto venga sottoposto a temperature superiori a 80°C per circa 3 minuti. Le analisi microbiologiche evidenziano un prodotto non pastorizzato avente una concentrazione di batteri lattici e carica batterica totale più alta rispetto al primo

lavoro. La differenza è mediamente intorno ai due decimali. Sono assenti nel prodotto non pastorizzato i coliformi, mentre si registrano le stesse concentrazioni di stafilococchi e di lieviti e muffe.

La seconda parte della figura 2.20 invece mostra il campione pastorizzato. Il grafico evidenzia una concentrazione microbica del prodotto pastorizzato simile a quella relativa alla prima parte del lavoro, solo i lieviti e muffe e gli stafilococchi hanno concentrazioni più basse. Questo risultato avvalora le considerazioni effettuate sulla bontà dell'intervento apportato in fase di pastorizzazione.

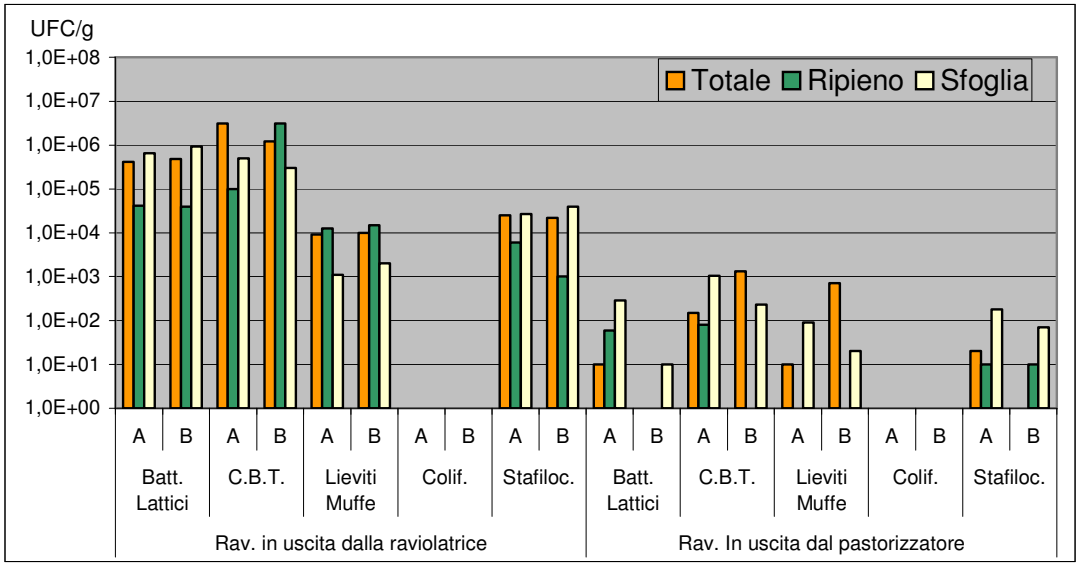


Figura 2.20 Carica microbica nelle fasi di lavorazione

<u>Analisi dei prodotti finiti confezionati in atmosfera ordinaria</u>

I ravioli in questione sono stati confezionati in atmosfera ordinaria in vaschette e pellicola in PVC. In ogni confezione si contano 24 ravioli. Le analisi sono state eseguite a 1, 7, 10, 14 giorni dalla produzione.

Al primo tempo di analisi nel raviolo totale si rileva la presenza delle seguenti classi microbiche:

- Conta Batterica Totale: valori medi di $8,5x10^{1}$ ufc/g
- Batteri lattici: assenti
- Lieviti e muffe: valori medi di $1,0x10^{1}$ ufc/g
- Coliformi: assenti
- Stafilococchi: valori medi di $2,0x10^{1}$ ufc/g
- Clostridi: valori medi di $1,8x10^{1}$ ufc/g

Confrontando i seguenti valori con quelli ottenuti nella prima parte del lavoro, si può osservare una lieve flessione nelle concentrazioni microbiche iniziali di tutte le classi microbiche studiate. La sfoglia presenta una contaminazione mediamente superiore ai ravioli tal quali, mentre nel ripieno sono presenti, ma in misura inferiore, mesofili aerobi, stafilococchi e clostridi, sono invece assenti batteri lattici, lieviti e muffe e coliformi (Figura 2.21).

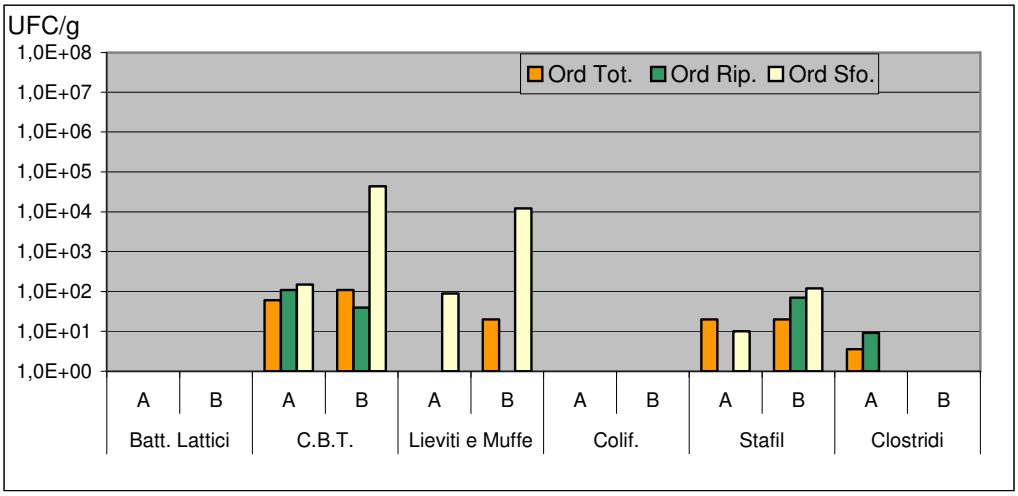


Figura 2.21 Carica microbica primo tempo di analisi ravioli atm. ordinaria

Ai successivi tempi di analisi si nota un progressivo incremento della popolazione microbica, sino a superare i limiti fissati dalla legge per i mesofili aerobi, che variano tra $4{,}0*10^5$ e $4{,}0*10^6$ UFC/g (Figura 2.21). Anche in questo caso i valori registrati sulla sfoglia sono simili a quelli dei ravioli tal quali. Il ripieno ha valori di CBT inferiori rispetto agli altri due campioni, oltre a non fare registrare la presenza di batteri lattici e di stafilococchi.

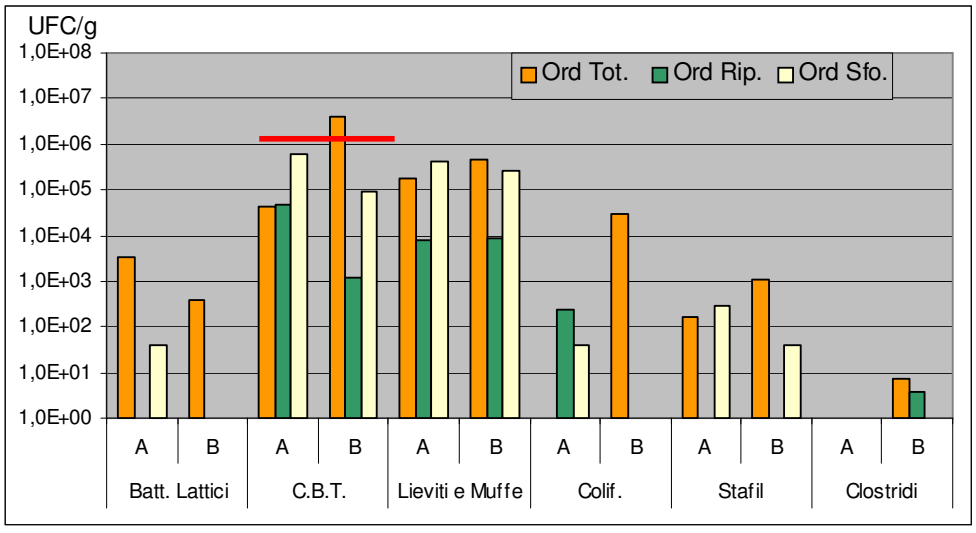


Figura 2.22 Carica microbica al 14° giorno ravioli atm. ordinaria

La *shelf life* termina al 14° giorno di analisi per il superamento dei limiti di legge (come verificato nella prima parte del lavoro), e al 15° giorno di analisi sulla superficie del prodotto compaiono le muffe.
I risultati relativi alle determinazioni chimico-fisiche effettuate mostrano:

- pH 6.30
- a_w compresa tra 0.98 e 0.99
- L'umidità dei ravioli tal quali rimane stabile sul 52%.

Analisi dei prodotti finiti confezionati in atmosfera modificata

I ravioli sono stati confezionati in atmosfera modificata impiegando vaschette chiuse con film barrierato in polietilentereftalato (PET). Ogni confezione è composta da un totale di 30 ravioli. Le analisi sono state effettuate a 1, 7, 14, 21 e 28 giorni dalla produzione. Per questa tipologia di prodotto, inoltre, è stata analizzata l'evoluzione della composizione della miscela gassosa all'interno della confezione. Al primo tempo di analisi nei ravioli tal quali si rileva la presenza delle seguenti classi microbiche:

- Conta Batterica Totale valori medi di $8,7x10^4$ ufc/g
- Batteri lattici valori medi di 25 ufc/g
- Lieviti e muffe valori medi di $2,5x10^4$ ufc /g
- Coliformi hanno valori medi di 20 ufc/g
- Stafilococchi valori medi di $1,3x10^2$ ufc/g
- Clostridi: in numero inferiore a 30 ufc/g

Confrontando i seguenti valori con quelli ottenuti nella prima parte del lavoro, si può osservare un incremento nelle concentrazioni microbiche iniziali di tutte le classi microbiche meno ad eccezione dei coliformi che rimangono stabili.

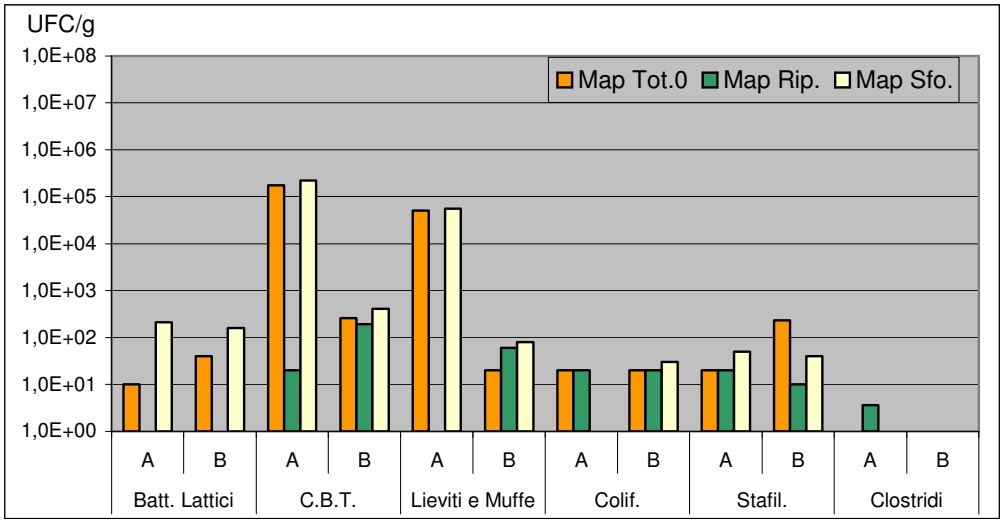


Figura 2.23 Carica microbica al primo tempo di analisi ravioli atm. modificata

La sfoglia presenta concentrazioni delle varie classi microbiche simili nei ravioli tal quali mentre nel ripieno si riscontrano valori maggiori di CBT, coliformi, lieviti e muffe e stafilococchi, sono invece assenti batteri lattici (Figura 2.24).

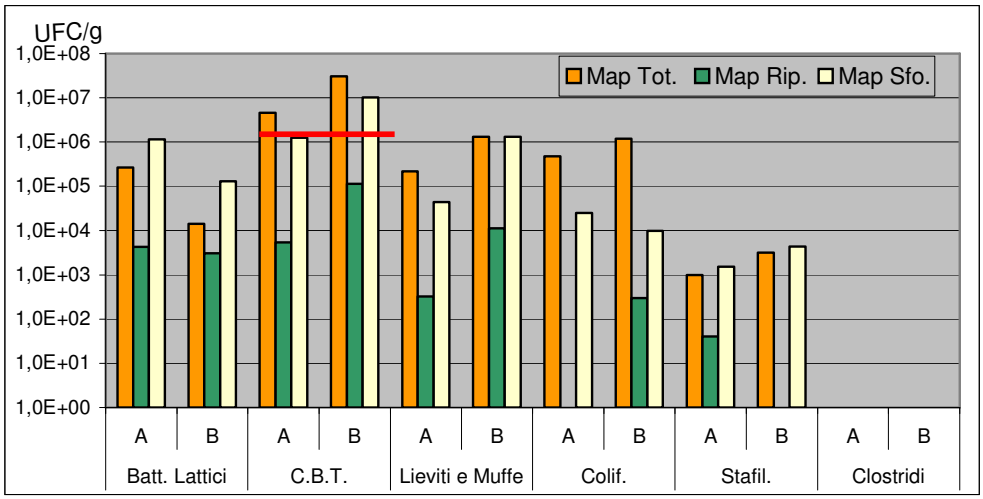


Figura 2.24 Carica microbica ultimo tempo di analisi ravioli atm. modificata

La *shelf life* del prodotto si ferma a 28 giorni dalla produzione, quando vengono raggiunti i seguenti valori di contaminazione microbica:

- Conta Batterica Totale valori medi di $1{,}8 \times 10^7$ ufc/g
- Batteri lattici valori medi di $1{,}5 \times 10^5$ ufc/g
- Lieviti e muffe valori medi di $7{,}7 \times 10^5$ ufc/g

- Coliformi valori medi di $8,4x10^5$ ufc/g
- Stafilococchi valori medi di $2,1x10^3$ ufc/g
- Clostridi in numero inferiore a 30 ufc/g

Per quanto riguarda la composizione della miscela dei gas presenti nella confezione si rilevano concentrazioni dei gas pressoché stabili, ma è sempre presente un residuo di ossigeno all'interno della confezione. I risultati relativi alle determinazioni chimico-fisiche effettuate mostrano:

- pH 6.30
- a_w compresa tra 0.98 e 0.99
- L'umidità del raviolo totale rimane stabile intorno al 52-53%.

Si assiste inoltre ad un passaggio dell'acqua dal ripieno, che perde rispetto al primo tempo di analisi il 2% di umidità, a favore della sfoglia.

CONCLUSIONI

Il processo di pastorizzazione messo a punto nella seconda fase del lavoro è sicuramente più efficace rispetto a quello adottato nella prima. Infatti si può notare come pur partendo da materie prime più contaminate si ottiene un prodotto pastorizzato più sicuro dal punto di vista igienico.

Le analisi microbiologiche mostrano una contaminazione iniziale più elevata nel campione confezionato in atmosfera protettiva rispetto a quello in atmosfera ordinaria e rispetto al campione prelevato in uscita dal pastorizzatore. Per quanto riguarda il confezionamento in atmosfera modificata, si riscontra in entrambe le lavorazioni effettuate, una percentuale importante di ossigeno, che se ridotta consentirebbe una più contenuta proliferazione delle specie microbiche aerobie.

I SALUMI AFFETTATI

Le problematiche di conservabilità legate a questi prodotti sono rappresentate dall'imbrunimento e dall'indurimento, associati allo sviluppo di odori sgradevoli. Queste problematiche limitano la vita commerciale del prodotto a 60 giorni.

Lo scopo di questo lavoro è di identificare e monitorare gli indicatori qualitativi che determinano la *shelf life* dei prodotti oggetto della sperimentazione.

Nel lavoro svolto sono stati monitorati alcuni fondamentali parametri di qualità dei salumi quali: il colore, la struttura, i parametri chimico-fisici ed i gas contenuti nelle confezioni.

Il colore è uno degli aspetti qualitativi più importanti per i prodotti carnei in quanto rappresenta per il consumatore un indicatore di freschezza immediatamente percepibile (6). Il colore rosso del tessuto muscolare è determinato dalla qualità e dallo stato chimico della mioglobina, una proteina presente nel muscolo, il cui compito è di mettere in riserva l'ossigeno che gli viene fornito dall'emoglobina, presente nei globuli rossi del sangue. Nella carne non sottoposta ad alcun trattamento (refrigerazione, salagione, speziatura, etc), la proteina in questione può subire diverse trasformazioni.

L'ossidazione del pigmento muscolare determina la formazione di metamioglobina (dal colore brunastro o giallo brunastro), che solo sostanze riducenti molto forti (es. acido ascorbico) possono ritrasformare in mioglobina. La colorazione bruna della carne è visibile quando il contenuto di metamioglobina raggiunge il 60%. Inoltre il colore può subire variazioni a seconda del tipo muscolo, dell'alimentazione e dell'età dell'animale.

Anche l'evoluzione dei vari parametri chimico-fisici ha la sua importanza nei prodotti carnei; infatti, bassi valori di pH, radiazioni ultraviolette, alte temperature e perdita d'acqua del prodotto accelerano la comparsa della colorazione bruna (28).

La struttura ha una certa influenza sulla qualità del prodotto, infatti, un aumento od una diminuzione della tenerezza del prodotto influenza l'accettabilità o meno da parte del consumatore.

Per preservare gli aspetti qualitativi di questa tipologia di prodotti, negli ultimi anni ci si è orientati verso la tecnologia del confezionamento MAP**,** che estende la *shelf life* in modo significativo, purché vengano rispetttate le buone pratiche di lavorazione e venga mantenuta la catena del freddo nella distribuzione.

Il confezionamento MAP ha effetti sull'indurimento, sul colore e sulla proliferazione di microrganismi; e pertanto si rivela più efficace del confezionamento sottovuoto(12).

La scelta dei gas di confezionamento è dettata dalla necessità di evitare il decadimento qualitativo del prodotto sia a livello chimico che microbiologico.

PARTE SPERIMENTALE

I prodotti oggetto dello studio sono stati coppa, lonza e salsiccia. La loro produzione ed il confezionamento sono stati effettuati secondo il protocollo messo a punto dall'azienda produttrice.

Figura 2.25 Lonza e salsiccia a fette nelle confezioni

I campioni sono stati confezionati in atmosfera modificata con una confezionatrice collegata ad una bombola premiscelata avente composizione 30% CO_2: 70% N_2. Le vaschette utilizzate nel confezionamento dei prodotti sono in PS-EVOH-PE; il film impiegato presentava caratteristiche di barriera ai gas. Le confezioni hanno un peso di 150 g +/- 10 e sono state conservate a 4°C nei laboratori della Porto Conte Ricerche. Le analisi seguenti sono state condotte a 0, 7, 14, 21, 35, 49, 63, 77 giorni dalla produzione.

Le analisi eseguite sui campioni sono state di tipo meccanico, chimico-fisico (umidità, A_W, pH); sono state effettuate inoltre misure colorimetriche e delle miscele di gas delle confezioni. La significatività statistica dei dati sperimentali è stata verificata mediante un'analisi della varianza a singolo fattore (ANOVA).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Misura miscele di gas

Le misure effettuate sulle confezioni, rivelano una concentrazione media dei gas del 10% di O_2, 10% di CO_2 e 80% di N_2. In seguito l'O_2 diminuisce sino al suo esaurimento, che avviene intorno al 14° giorno dal confezionamento. All'interno delle confezioni, dal 14° giorno per il resto della sperimentazione, si misura una miscela di gas intorno al 20% CO_2 e 80% di N_2. Fanno eccezione le confezioni di lonza, dove, negli ultimi tempi di analisi, si rileva un ulteriore incremento della concentrazione di anidride carbonica. La problematica più rilevante emersa dalle analisi è quindi la presenza di un'alta percentuale di ossigeno.

Analisi chimico-fisiche

L'analisi dei dati di a_w mostra che questo parametro non subisce variazioni rilevanti nella salsiccia e nella coppa durante la sperimentazione. La prima ha valori prossimi a 0,900, mentre quelli della coppa si aggirano intorno a 0,860. I valori di acqua libera della lonza tendono a calare da un valore iniziale di 0,950 a quello finale di 0,900.

Le misure dell'umidità, mostrano che i campioni di coppa e lonza hanno valori iniziali rispettivamente del 33% e del 57%. Al 14° e 21° giorno si registra un incremento di umidità del prodotto, mentre in seguito i valori si riavvicinano a quelli iniziali. La salsiccia invece non subisce variazioni rilevanti mantenendo un'umidità del 36%.

Anche il valore di pH varia nel corso della sperimentazione, ma in maniera differente per ciascun prodotto. Il pH della coppa tende ad aumentare costantemente durante il tempo, più precisamente si passa da valori di 5,90 a 6,40. Nella lonza il valore diminuisce di 0,8 al 21° giorno, per poi risalire in seguito. Il pH oscilla intorno a 6.00. Il pH della salsiccia al contrario degli altri salumi non presenta variazioni rilevanti e rimane stabile a 5,50.

Analisi di struttura

Le analisi di struttura hanno rilevato comportamenti diversi per ciascun prodotto. In particolare la durezza della coppa è rimasta immutata nel tempo tranne al 14° giorno, quando si manifesta una crescita di circa il 40% rispetto agli altri punti. L'adesività subisce un incremento da 0 a 14 giorni, ma in seguito il valore si porta su valori inferiori rispetto al primo tempo di analisi.

La lonza e la salsiccia presentano andamenti simili dei parametri presi in considerazione:

la durezza incrementa del 80-90% ai primi tempi di analisi con valori massimi ai 14 e ai 21 giorni. In seguito si attesta su valori superiori al tempo iniziale. L'adesività invece non subisce variazioni rilevanti nei primi 21 giorni di analisi, ma in seguito diminuisce.

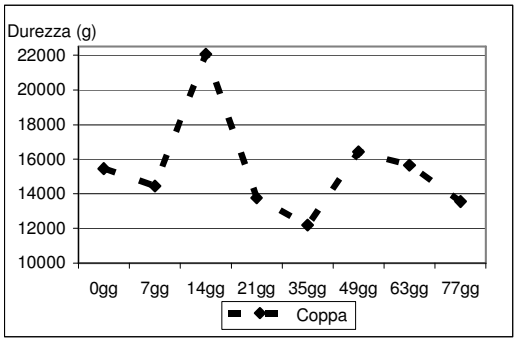


Figura 2.26 Andamento del parametro Durezza

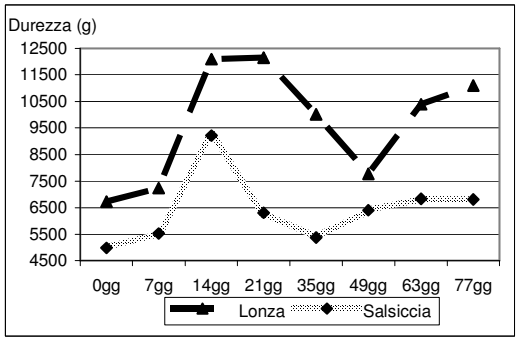


Figura 2.27 Andamento del parametro Durezza

Misure colorimetriche

L'analisi dei dati non ha rilevato differenze importanti nei campioni durante lo svolgimento della sperimentazione. Le variazioni riscontrabili durante il lavoro sono ascrivibili alla variabilità del prodotto.

DISCUSSIONE

Dai dati raccolti e dall'analisi dello stato dell'arte si può concludere che molto probabilmente le principali variazioni dei parametri qualitativi dei prodotti sono dovute all'ossigeno presente nelle confezioni. Questo ha favorito lo sviluppo di una microflora aerobia (muffe) visibile sulla superficie del prodotto.

Dal lavoro inoltre si osserva una correlazione tra i dati di umidità e di adesività, in quanto all'aumentare del primo aumenta il secondo e viceversa. Infine l'incremento così rilevante dei parametri legati alla struttura dei campioni descrive un repentino scadimento qualitativo del prodotto.

Seconda parte: Interventi sul prodotto

La seconda parte del lavoro è stata finalizzata a risolvere le problematiche legate al confezionamento riscontrate nella prima fase della sperimentazionee verificare la *shelf life* del prodotto con la nuova tipologia di confezionamento.

Campioni

I campioni sono stati prodotti e confezionati presso l'azienda, seguendo il protocollo messo a punto in loco dai ricercatori. In particolare sono state modificate le impostazioni della macchina confezionatrice: è stato eseguito uno svuotamento del 99%, in modo da allontanare il più possibile l'aria presente nelle confezioni, ed un riempimento dell' 85% con la miscela di gas desiderata (30% CO_2, 70% di N_2). I campioni analizzati in questa fase sono lonza e salsiccia, rispetto alla prima parte manca la coppa a causa dell'indisponibilità della azienda nel fornire il prodotto. Le analisi seguenti sono state condotte per 130 giorni divisi in 10 tempi, a cadenza quindicinale.

Analisi

Le analisi effettuate sono le stesse condotte nella prima parte del lavoro.

RISULTATI

Analisi miscele di gas

La concentrazione dei gas presente nelle confezioni è per tutti e due i campioni 30% CO_2 e 70% di N_2. Nella lonza il valore tende a variare nel tempo (come nella 1° parte del lavoro) passando a 65% CO_2 e 35% di N_2.

Analisi chimico-fisiche

L'analisi dei dati di a_w mostra che questo parametro non subisce variazioni rilevanti nella salsiccia con dati che oscillano tra 0,900 e 0,915. I valori di acqua libera della lonza tendono a calare ma in modo meno marcato rispetto alla prima parte del lavoro ovvero da un valore iniziale di 0,950 a quello finale di 0,920.

Anche l'umidità della salsiccia non presenta variazioni significative con valori vicini al 39%. Le uniche differenze si hanno nella lonza ma sono circoscritte ai tempi centrali, quando si scende su valori intorno al 50%, dal 56% iniziale. Occorre sottolineare che i valori di umidità tra i primi e gli ultimi giorni di conservazione sono praticamente uguali.

Il pH rimane stabile per tutta la sperimentazione nella salsiccia, i valori oscillano intorno a 5.00. Nella lonza invece i valori tendono ad abbassarsi leggermente negli ultimi tempi di analisi.

Analisi di struttura

I campioni analizzati hanno mostrano comportamenti simili. In particolare la durezza tende ad aumentare nel tempo, ma non in maniera direttamente proporzionale.

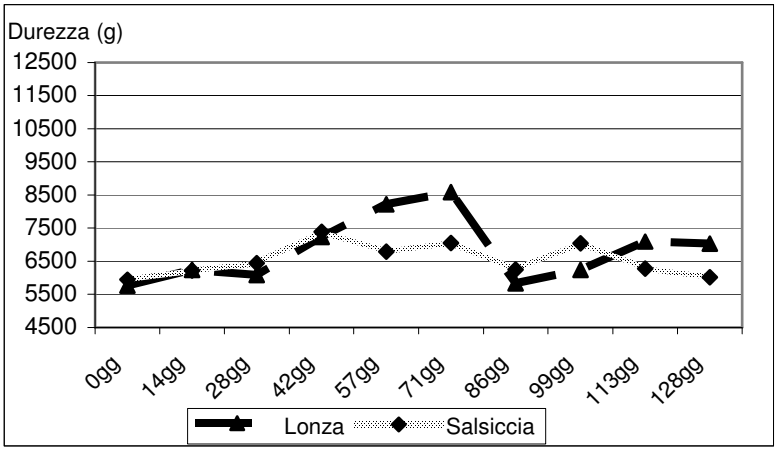


Figura 2.28 Andamento del parametro Durezza

Le variazione maggiori si hanno nei tempi centrali della sperimentazione; l'incremento dei valori di durezza misurati tra il primo e l'ultimo tempo è comunque di piccola entità.

Per quanto riguarda l'adesività, i campioni mostrano un andamento simile. La tendenza generale è una diminuzione del parametro in funzione del tempo di conservazione.

Analisi colorimetriche

L'analisi dei dati non ha rilevato differenze importanti nei campioni durante la sperimentazione. Le variazioni riscontrabili sono ascrivibili alla variabilità del prodotto.

CONCLUSIONI

Dai dati ottenuti nella seconda parte del lavoro si osserva che i parametri qualitativi mostrano una maggiore stabilità. Occorre fare alcune osservazioni:

- nel secondo campionamento non si riscontra la presenza di ossigeno all'interno delle confezioni, per cui non si è sviluppata la microflora aerobia che probabilmente ha contribuito a degradare il prodotto durante la prima parte della sperimentazione;
- è stato verificato che nel secondo campionamento gli incrementi di durezza sono molto più contenuti rispetto al primo. In particolare occorre sottolineare il fatto che tra i primi e gli ultimi tempi di analisi il prodotto ha un valore di durezza molto simile;
- l'abbassamento di pH della lonza (riscontrabile in tutti e due i casi) è molto probabilmente correlato all'incremento della concentrazione dell'anidride carbonica, che si verifica all'interno delle confezioni nell'arco della sperimentazione.

Come si è potuto notare spesso è stato messo l'accento sulla variabilità dei campioni sottoposti ad analisi. Questo, in effetti, è un limite di questi prodotti, dovuto evidentemente alla eterogeneità del prodotto. A questa considerazione se ne lega un'altra: la salsiccia è il

prodotto più stabile e che ha presentato meno variazioni in tutti i parametri nei lavori eseguiti. Questo è probabilmente dovuto alla macinatura della carne che ha un effetto omogeneizzante, e che pertanto consente di mediare le differenze tra i vari tagli che la compongono.

Un'altra considerazione è legata alla miscela di gas impiegata dall'azienda all'atto del confezionamento. Dai dati bibliografici riferiti a prodotti similari, si evince che tra il confezionamento in atmosfera con concentrazioni del 100% N_2 e 20% CO_2 - 80% N_2, per il prosciutto crudo affettato, non vi sono differenze durante il periodo di conservazione (15), inoltre non sono state riscontrate differenze rilevanti nella conservazione del *chorizo* confezionato al 100% di N_2, 100% CO_2 e 50:50 N_2:CO_2 (12).

Riassumendo le conclusioni fin qui esposte, il prodotto si è conservato di qualità accettabile per tutta la durata della seconda parte del lavoro (130 giorni).

Per quanto riguarda gli scenari futuri per queste tipologie di prodotti, sarebbe opportuno affiancare alle analisi già svolte anche alcune misure di tipo microbiologico, testare l'accettabilità del prodotto con analisi sensoriali, ed infine monitorare quali sono gli effetti della CO_2 sul prodotto.

Bibliografia

1. AA.VV. “Il Carciofo: storia, tecnica colturale, politica comunitaria, ricerca, trasformazione” Collana: Filiera agroalimentare del medio campidano vol. I, 2003, Grafiche Serci, Serramanna, 314 pp.
2. Aidemir “Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from Artichoke (Cynara scolymus) heads” *Food chemistry* 87 (2004) 59-67.
3. Arrêté du 28 mai 1997 relatif aux règles d'hygiène applicables à certains aliments et préparations alimentaires destinés à la consommation humaine, J.O. Numéro 126 du 1° Juin 1997.
4. Anelli G., Mancarelli F. “Conservazione degli ortofrutticoli” 1990, Reda, Roma, 225 pp.
5. Bozzini A. “Aspetti tecnici, economici e politici della coltura del carciofo” *L’informatore Agrario* 22 (2003) 37-40.
6. Brewer M.S. “Consumer attitudes towards color and mardling of fresh pork”. National pork producer’s association fact sheet, 0420-04/01, NPPC, Des moines, IA. 2002.
7. Centre Technique Interprofessionnelle des Fruits et Légumes, Végétaux crus prêts à l'emploi (IV° gamme) Brochure J.O. n° 5900 1998.
8. Cheftel J.C., Cheftel H. “Biochimica e tecnologia degli alimenti” 1988, vol. I, Edagricole, Bologna,.355-366.
9. Church P.N., “Principles and applications of modified atmosphere packaging of food”. In: Meat products, R.T. Parry (Ed.) pp. 229-268, 1993.
10. Donini S., Grazianetti S., Damiolini M., Gritti S., Roncareggi G. “Microbiologia dei prodotti vegetali di IV gamma” A.C.N. La sicurezza microbiologica nella produzione di alimenti per il 21° secolo – Microbiologia degli alimenti conservati in stato di refrigerazione, 2005, Bologna, 69-92.
11. Espín J. C., Tudela J. and García-Cànovas F. “Monophenolase activity of poliphenoloxidase from artichoke heads (Cynara scolimus L.)” *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 30 (1997) 819-825.
12. Farber J.N. et al., “Microbiological safety of controlled and modified atmosphere packaging of fresh and fresh-cut produce” *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety* vol II (Supplement), 2003, 142-160.
13. Fernadez-Fernandez E.et al., “Sensory characteristics of galician chorizo sausage packed under vacuum and under modified atmospheres*”. Meat Science* 62, 67-71, 2002.
14. Fonseca Susana C., Oliveira Fernanda A.R., Bracht Jeffrey K. “Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review” *Journal of Food Engineering* 52 (2002) 99-119.
15. Galli Volonterio A. “Microbiologia degli alimenti”, 1999, Paravia, Torino, 1999, 206-209.
16. Garcia-Esteban M. et al. “Comparison of modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period storage of dry-cured ham: effects on colour, texture and microbiological quality”. *Meat Science* 67, 57-63, 2004.
17. Giménez M., Olarte C., Sanz S., Lomas C., Echàvarri J.F., Ayala F. “Relation between spoilage and microbiological quality in minimally processed artichoke packaged with different films” *Food microbiology* 20 (2003) 231-242.
18. Jacxsens L., Devlieghere F., van der Steen C., Debevere J. “Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce” *International Journal of Food Microbiology* 71 (2001) 197-210.
19. Jacxens L., Devlieghere F., Debevere J. “Validation of a sistematic approach to design equilibrium modified atmosphere packages for fresh-cut produce” *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 32 (1999) 425-432.
20. Jacxens L., Devliegere F., Debevere J. “Predictive modelling for packaging design: equilibrium modified atmosphere packages of fresh-cut vegetables subjected to a simulated distribution chain” *International Journal of Food Microbiology* 77 (2002) 199-204.
21. Johannessen Gro S., Loncarevic S., Kruse H. “Bacteriological analysis of fresh produce in Norway *International Journal of Food Microbiology* 77 (2002) 199-204.
22. Lercker G. “Meccanismi di deterioramento degli alimenti refrigerati” A.C.N. La sicurezza microbiologica nella produzione di alimenti per il 21° secolo – Microbiologia degli alimenti conservati in stato di refrigerazione, 2005, Bologna, 43,48.
23. Manuale Tecnico Flair Flow Europe FFE 376A/00 “Frutta e ortaggi pronti per l’uso”
24. Mioni R. et al. “Valutazione igienico sanitaria dei prodotti vegetali della IV gamma prodotti e commercializzati nel territorio nazionale: Dati preliminari” A.C.N. La sicurezza microbiologica nella

produzione di alimenti per il 21° secolo – Microbiologia degli alimenti conservati in stato di refrigerazione, 2005, Bologna.
25. National Advisory Commitee on Microbiological Criteria for Foods "Microbiological safety evaluation and reccomendations on fresh produce" *Food control* 10 (1999) 117-143.
26. Ohlsson T., Bengtsson N. "Minimal processing technologies in the food industry" 2002, Woodhead Publishing Limited, Abington Cambridge, England, 288 pp.
27. Palmieri A., Pulina P. "Costi e redditività a confronto per tre tipologie di carciofo" *Informatore Agrario* 22 (2003) 43-46.
28. Ray B., "Fundamental food microbiology" 2nd ed. Pp.65-69. Boco Raton, FL:CRC Press LLC, 2001
29. Riva M., Piergiovanni L., Galli A. "Valutazione della shelf-life di vegetali freschi confezionati preparati per il consumo" in "Ricerche e Innovazioni nell'industria alimentare Vol IV" a cura di Porretta S., 2000, Chiriotti Editori, Pinerolo, 207-221.
30. Robertson G. L. "Food Packaging - principles and practice" 1993, Marcel Dekker Inc., New York, 73-108, 470-504.
31. Rocculi P., Romani S., Venir E., Della Rosa M., Mastroccola D. "Aspetti tecnologici di prodotti a base di frutta trasformata "al minimo" (IV gamma)" *Frutticoltura* n.3 (2003) 23-31.
32. Sanz S., Giménez M., Olarte C., Lomas C. & Portu J. "Effectiveness of chlorine washing disinfection and effects on the appearance of artichioke and borage" *Journal of Applied Microbiology* 93 (2002) 986-993.
33. Seideman S. C.et al., "Factors associated with fresh meat color : a review". *Journal of food quality* 6, 211, 1984.
34. Solomos, T. 1994. Some biological and physical principles underlying modified atmosphere packaging, In: *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*, ed. R.C. Wiley, pp. 183-225. Chapman and Hall, New York.
35. Tomasoni L., Previdi M. P., Sansebastiano G., Chiuri A. "Lavaggio e sanitizzazione di verdure destinate alla IV gamma" *Industria conserve* 76 (2001) 21-31.

3. IMPIEGO COMBINATO DI OSTACOLI ALLO SVILUPPO DEI MICRORGANISMI

Per "tecnologia degli ostacoli" (*Hurdles technology*) si intende l'uso di più tecniche di conservazione, con l'obiettivo di abbattere la carica microbica, inattivare i meccanismi di deperimento chimici e fisici e creare un ambiente ostile per i microrganismi alteranti e patogeni nell'alimento allo scopo di mantenere una elevata qualità sensoriale e nutrizionale.

In passato, la combinazione di più metodi di conservazione era usata senza discernimento circa i principi che ne governano il funzionamento. Da 20 anni a questa parte l'applicazione "intelligente" della tecnologia degli ostacoli ha preso piede grazie alla maggiore comprensione delle variabili (temperatura, pH, a_w, Eh, microflora antagonista) e interazioni che influenzano la *shelf-life* degli alimenti.

Sono esempi di ostacoli: trattamento termico, congelamento, refrigerazione, variazione dell'attività dell'acqua, variazione del potenziale di ossidoriduzione, l'uso di conservanti, la flora microbica competitiva. Gli ostacoli possono essere applicati sequenzialmente, per esempio una serie di fasi di trasformazione, oppure insieme, per esempio l'uso di una certa formulazione per ridurre l'a_w e il pH.

INSALATA DI MARE

Le semiconserve marinate dei prodotti della pesca sono preparate di norma impiegando pesce, molluschi, crostacei e surimi.

La lavorazione tradizionale consiste dapprima in una marinatura del prodotto in soluzioni contenenti aceto di vino e sale, seguita dal confezionamento in contenitori ai quali è aggiunto olio vegetale. Viene fatto inoltre uso di additivi quali sostanze acidificanti, antimicrobiche antiossidanti ed esaltatori di sapidità.

I prodotti marinati possono essere suddivisi in due categorie:

Marinati crudi. Sono prodotti a base essenzialmente di pesce azzurro crudo, che una volta pulito e filettato viene marinato con aceto e percentuali di sale pari all'8-12%. Il prodotto viene generalmente conservato in recipienti con olio di semi di girasole.

Marinati cotti. Appartengono a questa categoria le preparazioni tipiche della zona del delta del Po (anguille e latterini).

In questi ultimi anni si è sviluppato molto un prodotto marinato cotto a base di molluschi crostacei e surimi: l'insalata di mare.

La materia prima utilizzata è in gran parte di provenienza estera (area atlantica ed indiana). Accanto al marinato tipico, ricorrendo a nuove tecnologie ed all'ausilio di additivi, è stato creato un nuovo prodotto dal sapore più tenue che sta trovando crescente interesse presso i consumatori italiani e stranieri come antipasto e come ingrediente di altri piatti.

É caratterizzato da un gusto delicato di aceto e da un aspetto "al naturale" ovvero i vari componenti devono apparire ben miscelati tra loro pur mantenendo il loro colore originale. Molto importante risulta la temperatura di conservazione. Si è osservato infatti che a valori superiori a 15°C, a fronte di una carica batterica mesofila e lattica solo leggermente superiore al prodotto conservato correttamente (4°C), pur mantenendosi il pH inferiore a 4,50, il prodotto subisce modificazioni sensoriali notevoli quali: sbriciolamento, odore rancido e imbrunimento (1).

PARTE SPERIMENTALE

L'insalata di mare utilizzata per le prove sperimentali e fornita da un'azienda partecipante al progetto è composta da molluschi cefalopodi (polpo e totano), cozze, gamberi e surimi conditi con vari aromi, olio (oliva e semi di girasole), aceto di vino, stabilizzata con acido citrico, acido ascorbico e con diversi additivi chimici. Il pH è compreso tra 5,40-5,50. La *shelf life* dichiarata del prodotto è pari a 60 giorni in condizioni di refrigerazione (+4 °C).

Il lavoro era finalizzato a prolungare la *shelf life* del prodotto, eliminando gli additivi chimici che causano sgradevoli retrogusti oltre a non essere accolti favorevolmente dai consumatori.
Per le prove preliminari sono state utilizzate 2 vaschette da 500 g su cui sono stati misurati il pH (5,55) e l'a_w (0,979).
Poiché a questi valori di pH ed a_w cresce in pratica ogni classe microbica, è stata effettuata una prima prova di confezionamento utilizzando i prodotti forniti dall'azienda senza l'aggiunta di additivi. I prodotti confezionati sono stati in parte pastorizzati, fino al raggiungimento di un F 71,1 z=10 pari a 30, ed in parte sterilizzati (F0 pari a 7) (Figura 3.1). Le vaschette pastorizzate sono state conservate in condizioni di refrigerazione, mentre quelle sterilizzate sono state stoccate in termostato a 30°C per verificare la stabilità microbiologica.

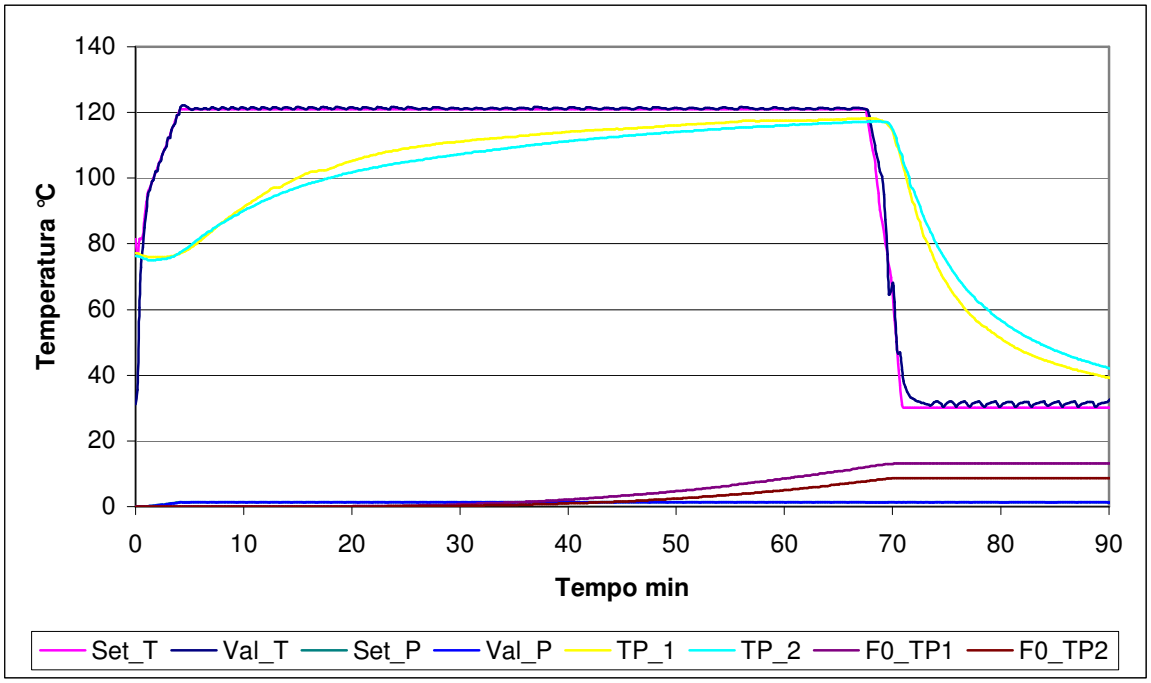


Figura 3.1- Curva di penetrazione del calore vaschette di insalata di mare

Il prodotto sottoposto a sterilizzazione presentava un aspetto "cotto" (Figura 3.2), e pur essendo microbiologicamente sicuro, appariva all'assaggio nettamente differente dal prodotto dell'azienda, sia per quanto riguarda la consistenza dei pezzi di molluschi sia per il sapore; il prodotto ottenuto era più simile ad una zuppa di pesce che ad un'insalata di mare. Per tale motivo si è deciso di scartare questa procedura.

Figura 3.2- Insalate di mare, da sinistra: confezione azienda, confezione sterilizzata, confezione pastorizzata

Le vaschette pastorizzate (Figura 3.2) sono apparse molto più simili al prodotto originale, anche se il pH così elevato (5,60) non ne consente la conservazione a temperatura ambiente.

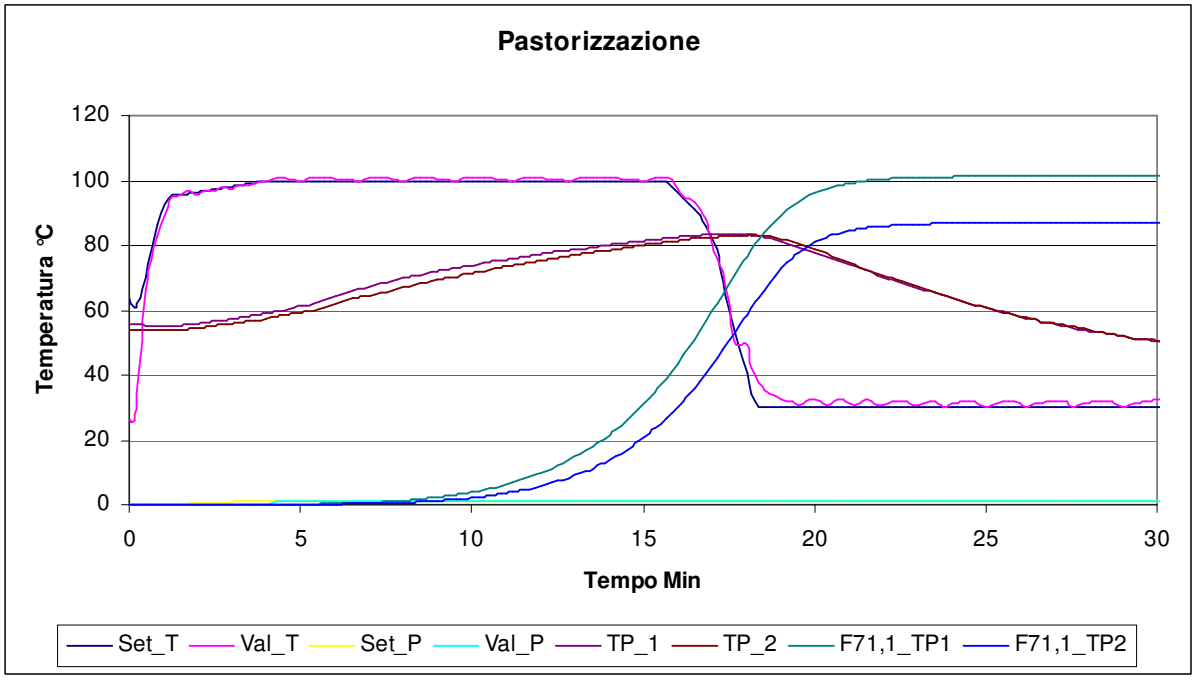


Figura 3.3 Curva di penetrazione del calore vaschette insalata di mare

Per ovviare a tale inconveniente si è proceduto ad effettuare delle prove di marinatura del prodotto con l'intento di portare il pH a valori inferiori a 4,50. Il trattamento di marinatura è di particolare importanza, sia per l'aspetto igienico sanitario, sia per le caratteristiche sensoriali che il prodotto assume. Convenzionalmente il limite superiore per il valore di pH al cuore del prodotto è pari a 4,50, valore limite massimo per impedire la crescita del *Clostridium botulinum* e la conseguente produzione della neurotossina. Il prodotto finito generalmente mostra una popolazione microbica composta da batteri lattici dell'ordine di 10^4-10^6 UFC/g, nettamente prevalente su altri gruppi microbici. Da considerare inoltre la diversa efficacia degli acidulanti utilizzati: per esempio l'acido citrico è meno efficace dell'acido acetico nel controllo della *Salmonella*.

Sono state quindi allestite diverse prove nelle quali di volta in volta è stato modificato un parametro ed in particolare: il tempo di marinatura, la quantità di soluzione acidificante e il tipo di acido.

E' stata effettuata una prima prova in cui l'insalata è stata immersa in una soluzione acidificante aceto-acqua (33-66%, pH 3.00) nella proporzione di 3 parti di insalata e 2 di soluzione. Alle 24 ore è stato misurato il pH che è risultato essere pari a 4,65; alle 48 ore è stata ripetuta la misura del pH che non ha mostrato variazioni rispetto alla misura precedente. Poiché non si sono ottenuti i risultati desiderati (pH< 4.50) si è deciso di effettuare una seconda prova in cui si è variato da un lato il rapporto insalata-soluzione e dall'altro le concentrazioni delle soluzioni acide.

Nella seconda prova la prima soluzione usata è stata la medesima della prova precedente (pH 3.00) utilizzata in rapporto di 1/1 con l'insalata di mare; la seconda prova ha previsto l'utilizzo di una soluzione acida composta dal 50% di aceto e dal 50% di acqua (pH 2,77), anche questa utilizzata in rapporto di 1/1 con l'insalata.

Alle 24 ore è stato misurato il pH di entrambe le marinate; la prima ha fatto registrare una misura di 4,55, mentre la seconda ha fatto registrare una misura di pH di 4,27.

A questo punto si è proceduto a preparare 3 diverse tipologie di prodotto da confrontare con l'insalata prodotta dall'azienda (Figura 3.4):

1) insalata di mare acidificata a pH 4,20-4,30, pastorizzata e conservata a temperatura ambiente

2) insalata di mare acidificata a pH 4,20-4,30, conservata a T = +5 °C

3) insalata di mare tal quale (pH 5,50), pastorizzata, conservata a T = +5 °C

Figura 3.4 Insalate di mare, da sinistra: confezione acidificata e pastorizzata, confezione acidificata e non pastorizzata, confezione pastorizzata e non acidificata.

E' stata effettuata la prova di assaggio delle insalate di mare modificate, confrontandole con un campione prodotto dall'azienda.

All'analisi visiva, valutando il colore dei pezzi ed il grado di imbrunimento dell'olio, l'insalata acidificata e non pastorizzata e quella pastorizzata/non acidificata appaiono abbastanza simili al prodotto campione. Il prodotto acidificato/pastorizzato appare piuttosto imbrunito, probabilmente a causa del vuoto insufficiente con conseguente presenza di ossigeno nella confezione che ha favorito i processi di ossidazione.

All'assaggio il prodotto che ha riscontrato la maggior preferenza è stato quello acidificato e non pastorizzato seguito da quello pastorizzato e non acidificato; quello acidificato e pastorizzato è stato scartato in quanto è risultato troppo acido.

Nell'intento di limitare l'ossidazione del prodotto, il test successivo è stato costituito da una prova di confezionamento in azienda, con le loro vaschette, che presentando migliori caratteristiche meccaniche sopportano un vuoto spinto; al confezionamento in assenza di additivi chimici, ha fatto seguito la stabilizzazione termica e una prova di *shelf life* per verificarne la durata microbiologica.

L'insalata di mare è stata marinata secondo il protocollo sperimentale messo a punto durante le fasi precedenti e dopo 18 ore il pH aveva raggiunto il valore di 4,20; il prodotto è stato quindi confezionato e pastorizzato in forno a convezione di vapore alla temperatura di 94°C (set point) fino al raggiungimento di un F 71-10 pari a 30. Il processo è stato seguito tramite

sonde Ellab posizionate all'interno delle vaschette. Per la prova sono state impiegate vaschette poste in differenti posizioni all'interno del forno (sonda 1 sul fondo del vassoio di carico, sonda 2 superiormente alle altre vaschette, sonda 3 in mezzo; Figura 3.5). Come risulta dalla grafico le vaschette poste in posizione mediana sono quelle che essendo nella posizione maggiormente sfavorita hanno raggiunto il valore di F desiderato più tardi. In conclusione si può affermare che per effettuare una pastorizzazione efficace in condizioni di produzione sono necessari circa 44 minuti di trattamento. I campioni pastorizzati e non sono stati trasportati presso il centro di ricerca in condizioni di refrigerazione per la prova di stabilità.

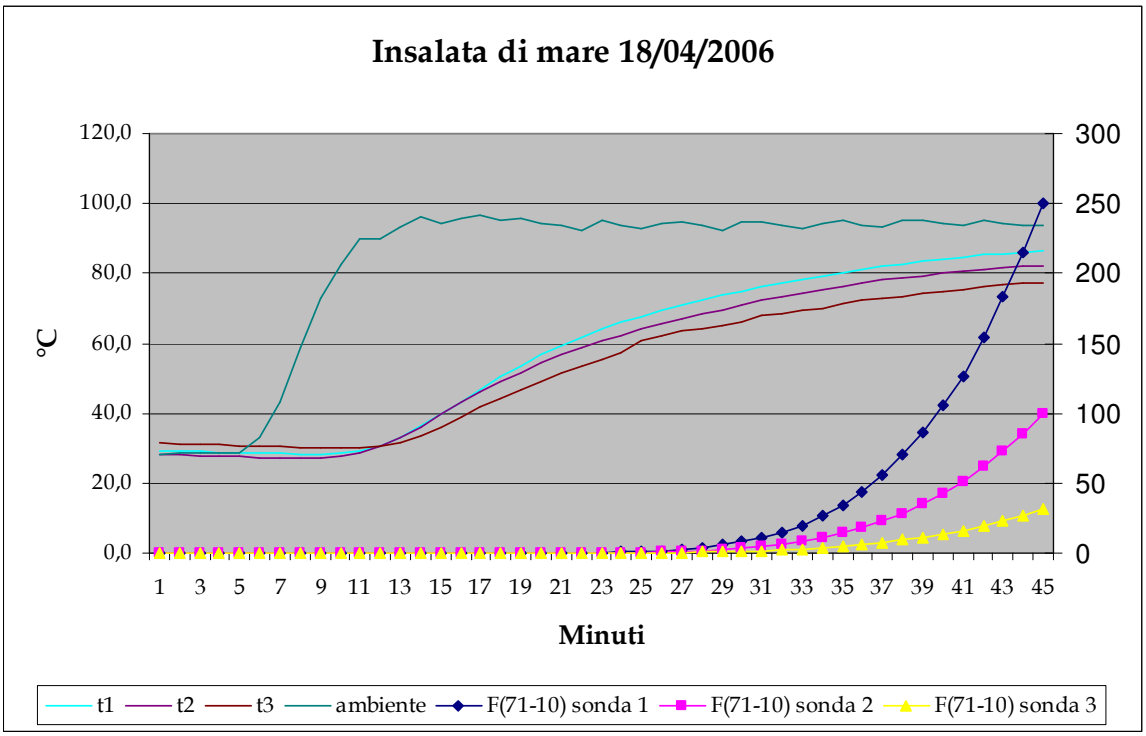


Figura 3.5 Curve di penetrazione registrate in azienda

Curve di resistività insalata di mare

Al fine di verificare la possibilità di effettuare la pastorizzazione dell'insalata di mare con l'impianto ohmico che, essendo in grado di riscaldare il prodotto in tempi estremamente contenuti, risulta maggiormente conservativa per le caratteristiche sensoriali rispetto ai trattamenti termici convenzionali, sono state condotte delle prove di resistività con un riscaldatore ohmico statico, ponendo nelle celle di misura campioni con diverse % di olio. Tutte le misure sono state effettuate al centro della cella e all'interno di un solo pezzo. In particolare sono state condotte prove sui seguenti campioni:

- Pezzi con il 28% di olio sul totale
- Solo pezzi di frutti di mare
- Pezzi con il 20% di olio sul totale
- Pezzi con il 15% di olio sul totale

Dalle prove è emerso che:

1. Il prodotto confezionato secondo la formula dell'azienda (olio pari al 28%) si scalda poco e lentamente. La misura di resistività e il riscaldamento non sono agibili in quanto, gia a basso voltaggio, a causa della bassa conducibilità del mezzo, scatta la protezione interna del misuratore.
2. Il prodotto è molto disomogeneo. Per esempio, nella misura effettuata sul campione con il 20% di olio, la temperatura dopo riscaldamento variava da 35°C al centro della cella a 44°C in prossimità dell'elettrodo. (Figura 6)

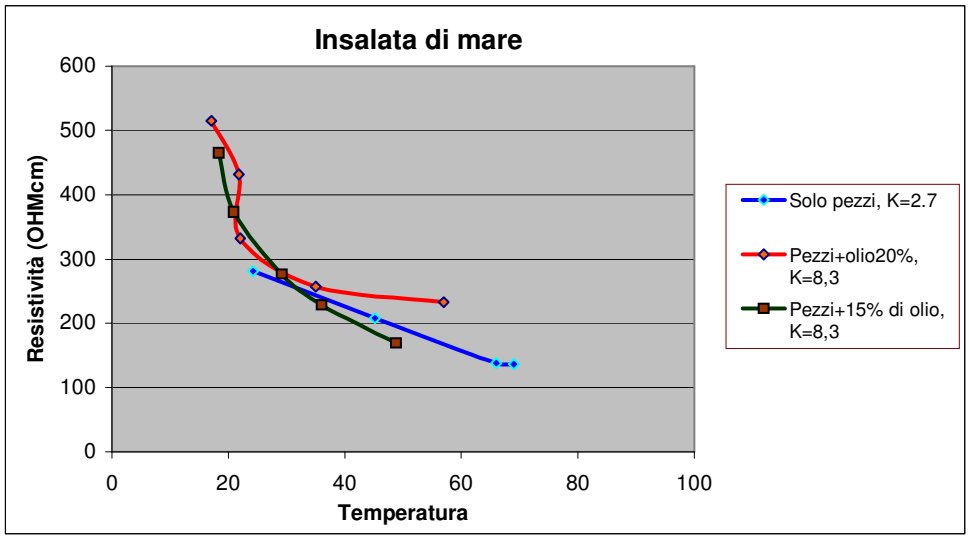


Figura 3.6 Curve di resistività insalata di mare

E' stata effettuata anche una prova di riscaldamento sul prodotto, partendo da temperatura ±20°C. Sul campione formulato con il 28% in olio, a 100 Watt, raggiunti appena 24,5 gradi scatta la protezione interna. A 50 Watt si è riusciti a riscaldarlo in 2,25 minuti a 51,6 gradi, dopodiché la misura è stata sospesa per non compromettere la cella.
Per quanto riguarda il campione con 15% di olio, i risultati sono esemplificati nella presente tabella:

Potenza (Watt)	Tempo	Temperatura (°C)
50	2.26 minuti	63,7
100	1 minuto	84.2

Tabella 3.1 – Prova di riscaldamento insalate di mare

Non è stato possibile effettuare la prova sul nostro impianto in quanto sarebbero state necessarie importanti modifiche strutturali del medesimo a causa della elevata contropressione da applicare al prodotto durante la fase di trattamento.

Analisi microbiologiche

Il prodotto pastorizzato è stato analizzato a 30 e 60 giorni dal confezionamento, mentre quello acidificato e refrigerato è stato analizzato a 1, 20, 40 e 60 giorni, per le analisi sono stati utilizzati i seguenti terreni di coltura: PCA (conta mesofila totale aerobia ed anaerobia), BPA (stafilococchi), MRS (batteri lattici), VRBA+MUG (coliformi) e DRCM (clostridi). A 60 giorni la contaminazione microbica sia nei campioni pastorizzati che in quelli refrigerati è risultata ampiamente all'interno dei limiti di legge.

CONCLUSIONI

Dalle prove effettuate risulta che, per questo prodotto, è possibile sostituire efficacemente gli addittivi con dei trattamenti combinati di stabilizzazione. Questo apporta notevoli vantaggi sia in termini di gusto del prodotto che di immagine dell'azienda, che può commercializzare un prodotto di qualità superiore. Sia il prodotto pastorizzato che quello acidificato hanno una *shelf life* non inferiore a 60 gg., il che consente la distribuzione anche nella GDO.

PRODOTTI ITTICI AFFUMICATI

L'altra parte del progetto riguardava i prodotti ittici affumicati ed in particolare: tonno (*Thunnus thynnus*), pesce spada (*Xiphias gladius*) e blue marlin (*Makaira nigricans*), salati, affumicati e confezionati sotto vuoto. I prodotti sopraccitati hanno una *shelf life* dichiarata di 90 giorni in condizioni di refrigerazione a +5°C.

Il prodotto viene sottoposto a salatura a secco (7/8 ore) con iniezioni di salamoia nel pezzo, segue l'affumicatura a freddo (40°C) della durata di 3/4 ore, quindi l'essiccamento a 32/38°C, la spazzolatura ed il confezionamento sottovuoto.

La problematica evidenziata riguarda la disomogenea distribuzione del sale nel prodotto, con differenze anche marcate, tra le diverse parti dei tranci di pesce lavorati, che causano sia differenze dal punto di vista sensoriale (alcuni pezzi risultano più salati di altri), sia difficoltà nella conservazione dei medesimi.

Obbiettivo del lavoro è stato quindi lo studio della distribuzione del sale all'interno del prodotto, attraverso l'analisi dell'attività dell'acqua (a_w) e la determinazione chimica della quantità percentuale di NaCl. L'analisi dei dati così ottenuti ha consentito di avere un quadro oggettivo della distribuzione del sale nel prodotto da utilizzare come base di partenza per suggerire eventuali soluzioni tecniche atte a migliorare la qualità sensoriale e la conservabilità dei prodotti in esame.

Per la prova preliminare sono stati utilizzati 2 campioni forniti da un azienda partecipante al progetto, 1 di tonno ed 1 di blue marlin, del peso di circa 200 g cadauno, su cui sono stati determinati l'a_w della porzione esterna, intermedia ed interna.

Il valore di attività dell'acqua (a_w) gioca un ruolo decisivo sulla qualità del prodotto e sulla sua stabilità microbiologica, in quanto i batteri hanno bisogno di acqua per moltiplicarsi. In questo caso più che la quantità dell'acqua è importante la sua disponibilità, il cui grado è espresso appunto con il valore di a_w. Il grado di disponibilità dell'acqua è direttamente correlato alla concentrazione di soluti nel liquido tissutale. Naturalmente la salagione tende ad aumentare la concentrazione di soluti rendendo disponibile una minor quantità di acqua per lo sviluppo microbico.

Per il tonno affumicato i valori di a_w registrati sono stati di 0,943 per la porzione esterna, 0,947 per la porzione intermedia e di 0,938 per la porzione interna; per il blue marlin i valori di a_w sono stati di 0,943 per la pozione esterna , di 0,952 per quella intermedia e di 0,947 per quella interna.

L'analisi dei dati evidenzia una minor disponibilità di acqua libera nelle porzioni esterna, dove è stata effettuata la salatura a secco, e nella porzione interna, in corrispondenza delle

iniezioni di salamoia; la porzione intermedia pur mostrando una maggiore quantità di acqua libera non presenta valori di a_w molto distanti dalle altre due parti esaminate.
A questo punto si è proceduto alla determinazione chimica del tenore di sale all'interno dei prodotti. Il metodo da noi adottato è stato quello proposto per la misura del sale nei prodotti ittici nel quale il tenore di cloruri viene calcolato mediante la seguente formula:

(20-V)x0,5845x10=NaCl%

dove: V= ml di tiocianato di ammonio utilizzati per la titolazione.

I risultati ottenuti evidenziano che nel trancio di tonno la concentrazione di cloruro di sodio varia dal 3,5% nella porzione esterna fino al 5% nella porzione interna, mentre nel blue marlin si passa dal 3,7% sulla porzione esterna fino al 4,2% nella porzione interna del campione.
Dall'analisi dei dati appare che la distribuzione del sale nel campione è probabilmente influenzata dalle operazioni di salagione, infatti, la concentrazione salina è maggiore nelle parti esterna e centrale dove si è effettuata la salagione a secco e le iniezioni di salamoia, mentre risulta inferiore nella porzione intermedia, probabilmente a causa del ridotto tempo di salatura che non consente una uniforme diffusione del sale in tutto il campione. I valori di a_w registrati non sono tali da mettere al riparo il prodotto dallo sviluppo di batteri sporigeni (*Clostridium* spp.) e anche l'affumicatura a freddo non garantisce il prodotto contro questi microrganismi. Per concentrazioni di sale come quelle rilevate si impiegano in genere tempi di affumicatura > a 30 minuti e temperature comprese tra 80-82°C. Per ottenere un prodotto microbiologicamente sicuro è stata effettuata una prova di produzione, utilizzando blue marlin in tranci su cui è stata effettuata una salatura di circa 6 ore seguita dal lavaggio e quindi da una asciugatura a 28°C di 1 ora. Il processo di affumicatura è stato eseguito sui due pezzi: uno di circa 3 kg di peso e l'atro di circa 1 kg posti sul medesimo vassoio di carico al centro del forno di affumicatura. La temperatura è stata monitorata tramite termocoppie posizionate una al centro del pezzo ed una prossima alla superficie. La temperatura impostata è stata di 80°C per 50 minuti con ventilazione bassa, in quanto una ventilazione eccessiva tende ad asciugare il prodotto. Il trattamento è risultato insufficiente in quanto dopo 50 minuti la temperatura raggiunta al cuore del prodotto è risultata essere di 22,2°C nel pezzo grande e di 28,1°C in quello piccolo, la temperatura raggiunta nello strato superficiale è stata rispettivamente di 24,6°C e di 30,9°C. non sono state pertanto effettuate le prove di *shelf life* per verificarne la durata commerciale.
Si propone pertanto un protocollo di affumicatura a caldo.

Fasi della lavorazione "Hot smoking"

La materia prima deve essere quanto più uniforme, sono consigliati tranci di 4 cm di spessore.

Salagione.

Il prodotto deve essere immerso per 60 min in una salamoia ghiacciata contenete 16% di sale in peso. Il prodotto va quindi sciacquato delicatamente in acqua fresca, conservato una notte in ghiaccio (confezionato in buste) per consentire al sale di equilibrarsi, quindi caricato facendo in modo che i pezzi contigui non si tocchino. Il forno deve essere caricato a meta della capacità massima.

Asciugatura superficiale.

Questa operazione serve per creare una pellicola superficiale in modo che il fumo aderisca al prodotto. La superficie del prodotto deve essere asciugata per 1/2 ora con una temperatura impostata di 45-50°C, con il ventilatore di ricircolo acceso e il regolatore dello scarico completamente aperto (questo per favorire la fuoriuscita dell'aria umida dal forno). In questo modo si sviluppa in superficie una pellicola appiccicosa che supporta la deposizione del fumo, (il fumo non si deposita su superfici umide).

Affumicatura.

Per l'affumicatura è consigliabile bruciare in sequenza due file di segatura per un tempo totale di 2 ore. Durante questo tempo il regolatore degli scarichi deve essere aperto per ¼ appena sufficiente per impedire al fumo di ritornare indietro alla camera di affumicatura e per fornire una ulteriore asciugatura.

Come materiale combustibile, è bene usare segatura di media grandezza impilata in strato di 5/7,5 cm, con sopra uno strato di 0.7 cm di segatura fine.

A volte è necessario, durante il processo di affumicatura, ruotare le teglie in modo da esporre più uniformemente al fumo i vari pezzi. Se necessario, si possono ruotare le file prima di immettere nel bruciatore la seconda fila di segatura, evitando di immettere fumo nell'ambiente di lavorazione.

Tre file di segatura danno un colore migliore qualora si optasse per l'affumicatura a freddo.

La temperatura di affumicatura per le due ore deve essere mantenuta a 50°C.

Asciugatura.

Con lo scarico aperto per ¼, il carrello caricato per ½, e 50°C di temperatura nel forno, insieme alla affumicatura si effettua anche una asciugatura. Alla quarta ora del processo, il set point del forno deve essere aumentato a 66°C e poi a 99°C alla quinta ora. L'asciugatura deve durare 6 ore, dopo di che lo scarico deve essere chiuso per aumentare l'umidità durante la cottura.

Dalla prima ora e mezza fino alla quarta ora del processo la temperatura del prodotto al centro normalmente non varia, poiché durante l'evaporazione, il pesce si disidrata ma contemporaneamente si raffredda per sottrazione del calore latente di evaporazione dell'acqua.

Il seguente aumento di temperatura significa una diminuzione del tasso di asciugatura. Nel momento in cui la temperatura del forno viene settata a 99°C, lo scarico deve essere settato a ½ dell'apertura, ciò per implementare l'asciugatura e prevenire la coagulazione delle proteine solubili dovuta al fatto che il pesce non era sufficientemente asciutto. Il pesce scaldato troppo prima che sia sufficientemente asciutto acquisisce un sapore di pesce al forno non desiderabile.

Qualora fosse possibile la temperatura interna del pesce andrebbe monitorata con termocoppie.

Raffreddamento.

Il raffreddamento deve essere effettuato in due stadi. Nella primo, effettuato nel forno, la temperatura deve essere fatta scendere in un ora a meno di 99 gradi per evitare la sovracottura. Ciò può essere effettuato spegnendo il riscaldatore, aprendo lo scarico e facendo circolare aria fredda. Nelle altre due o tre ore, la temperatura deve essere diminuita a meno di 7°C per impedire la crescita di batteri patogeni. La temperatura deve essere quindi portata a 3°C per prevenire lo sviluppo di Clostridi tossigeni.

Il raffreddamento deve essere condotto in un ambiente sanitizzato, senza polvere, muffe, insetti.

È consigliabile non confezionare il prodotto per il raffreddamento, per evitare l'accumulo di umidità che favorisce la crescita fungina.

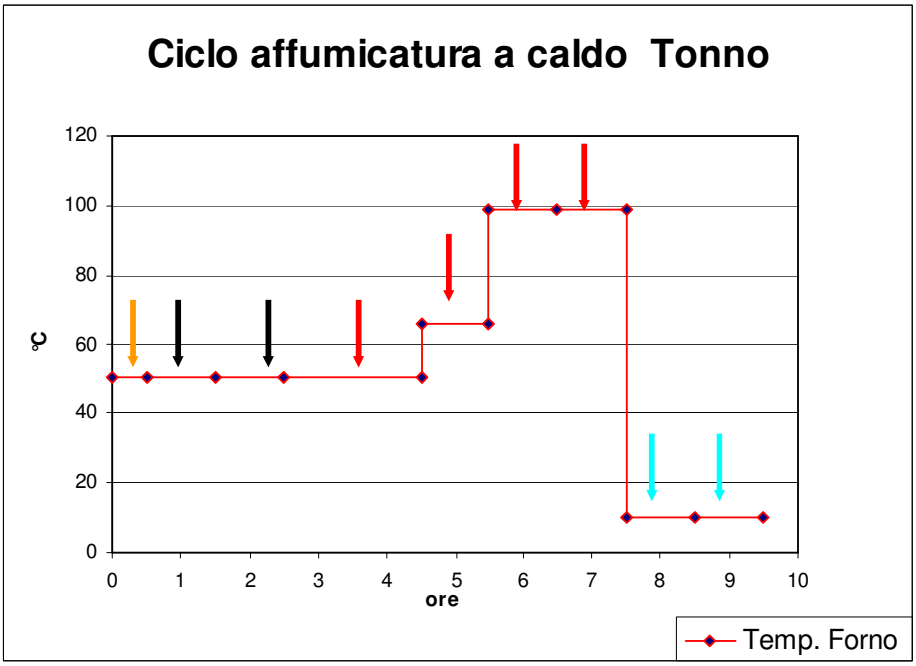


Figura 3.7 Ciclo di affumicatura a caldo di tranci di pesce, le frecce indicano le varie fasi del processo. Asciugatura superficiale, Affumicatura Asciugatura Raffreddamento

Bibliografia

1. Arcangeli G. e Bicchieri M., 1997.”Prodotti della pesca trasformati:le semiconserve marinate a base di molluschi” *Il Pesce*, 14 (2): 49-59.
2. SSICA, 1999. Metodo di prova LI/MP/N.9 per la determinazione del contenuto di cloruri nei prodotti ittici.
3. Cann D.C. and Taylor L.Y. 1979. “The control of botulism hazard in hot-smoked trout and mackerel.” *J.Food Technology*, 14:123-129.
4. Christiansen L.N., Deffner J., Foster E.M. and Sugiyama H. 1968 “Survival and outgrowth of *Clostridium botulinum* type E spores in smoked fish” *Applied Microbiology*, 16: 133-137.
5. Ecklund M. V., Pelroy G. A., Paranjype R. Peterson M. E. and Teeny F. M., 1982. “Inibition of *Clostridium botulinum* Types A and E toxin production by liquid smoke and NaCl in hot process smoke flavored fish.” *J. Food Protection*, 51: 720-726.
6. Graham A.F., Mason D.R., Maxwell F.J. and Peck M.W., 1997. “Effect of pH and NaCl on growth from spores of non-proteolytic *Clostridium botulinum* at cill temperature” *Letters in Applied Microbiology*, 24: 95-100.
7. Hilderbrand K.S., 2001. ” Fish smoking procedures for forced convection smokehouses” Ed. Sea Grant Oregon.
8. Kosak P. And Toledo R. 1980. “Product quality and energy use in high temperature smoking of fish.” *J Food Sci*., 45: 1481-1486.
9. Plahar W.A., Nerquaye-Tetteh G.A., Annan N.T. 1999. “Development of an integrated quality assurance system for the traditional *Sardinella spp*. and anchovy fish smoking industry in Ghana.” *Food Control* 10: 15-25.

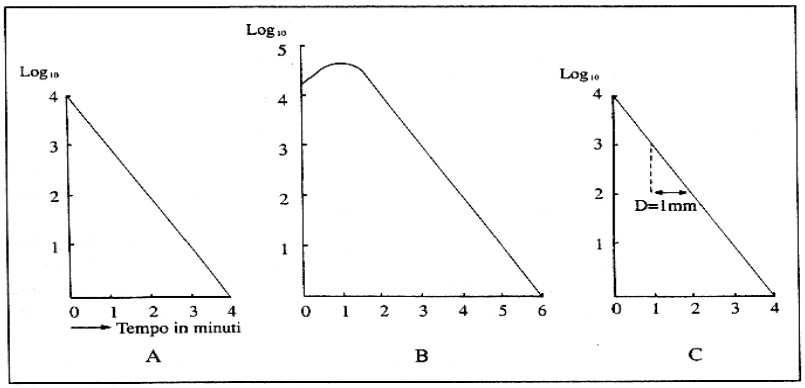
4. TRATTAMENTI TERMICI CONVENZIONALI

Note sulla stabilizzazione termica.

L'effetto conservante dei trattamenti termici è dovuto alla denaturazione delle proteine che inibisce l'attività enzimatica e il metabolismo microbico. Il tempo di trattamento necessario per distruggere il 90% dei microrganismi presenti nell'alimento, cioè per ridurre il loro numero di un fattore 10, viene definito "Tempo di riduzione decimale" e viene indicato con D. Semplificando, la velocità di distruzione microbica segue l'andamento di una reazione chimica di prim'ordine e il suo andamento è rappresentabile da una curva logaritmica di morte microbica (Figura 4.1).

I valori di D differiscono per le varie specie microbiche e valori più elevati indicano una maggiore resistenza al calore.

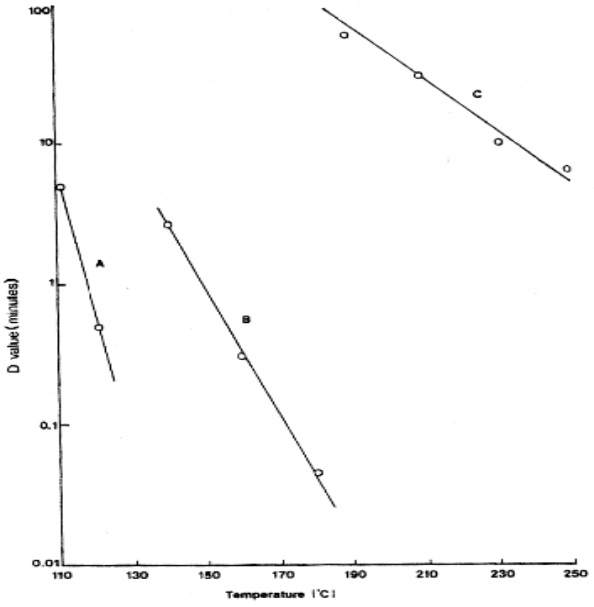
Vi sono due implicazioni molto importanti da quanto su detto. La prima è che più alto è il numero di microrganismi inizialmente presenti, maggiore è il tempo necessario per ridurre la concentrazione ad un livello specifico. La seconda è che, essendo l'andamento della distruzione in scala logaritmica, si avrà la distruzione di tutti i microrganismi solo con un trattamento termico infinito. Il compromesso risiede nel fissare la riduzione desiderata ad una quantità determinata; da qui deriva il concetto di "sterilità commerciale". Nel caso di trattamenti di stabilizzazione che hanno come obiettivo la riduzione di microrganismi particolarmente resistenti al calore, per ottenere la sterilità commerciale si considera il tempo necessario a ridurre di 12 cicli logaritmici ($1/10^{12}$) il numero di spore di *Clostridium botulinum* inizialmente presenti.



A) Morte dei germi secondo una curva logaritmica lineare. B) Morte dei germi secondo una curva sinusoide. C) Valore della costante D (tempo di riduzione decimale) in una curva logaritmica lineare di morte batterica.

Figura 4.1 Curva logaritmica di morte termica

La distruzione dei microrganismi è funzione della temperatura; le cellule microbiche muoiono più rapidamente a temperature più elevate. Correlando i valori di D a differenti temperature, si può costruire la curva del tempo di morte termica, che rappresenta la curva che correla l'aumento di temperatura con l'aumento della velocità di distruzione microbica. La pendenza della curva si indica con z; il suo valore rappresenta il numero di gradi centigradi di aumento della temperatura richiesti per ridurre di dieci volte il tempo di riduzione decimale D.



Z value plots of log D versus temperature.
Key—A: Z = 10°C *for* B. stearothermophilus *spores exposed to steam sterilization.*
B: Z = 22°C *for* B. subtilis *var* niger *spores exposed to dry heat sterilization.*
C: Z = 54°C *for* E. coli *endotoxin exposed to dry heat sterilization.*

Figura 4.2 Curve del tempo di morte termica.

Il tempo di riscaldamento (in minuti) ad una data temperatura, necessario per raggiungere il grado di inattivazione microbica desiderato, viene indicato con F (effetto sterilizzante).
Questi dati nel processo devono essere riferiti ad un particolare microrganismo bersaglio. Quindi, i valori di F in letteratura sono riportati per microrganismi specifici e per una data temperatura. Di solito, la temperatura di riferimento è 121,1°C, per un microrganismo con z=10. Questo particolare F viene indicato con F0. L'effetto sterilizzante necessario per ottenere la sterilità commerciale, ricavato dalla curva teorica, è di 2,52 minuti. Nella pratica

industriale, si applicano effetti sterilizzanti di sicurezza dell'ordine di 10 per i vegetali e 15 per le carni.

Di seguito sono riassunti i principali parametri della sterilizzazione in vapor saturo (quella utilizzata nelle autoclavi di sterilizzazione).

Tabella 4.1 Parametri della sterilizzazione in vapor saturo.

Processo di sterilizzazione in autoclave mediante vapore saturo.		
Simboli	**Termini**	**Definizioni**
D_T	Tempo di riduzione decimale	Tempo necessario ad una data temperatura (T) per ridurre al 10% il numero di microrganismi inizialmente presenti.
F_T^z	Tempo equivalente di sterilizzazione	Tempo equivalente di sterilizzazione riferito alla specifica temperatura T ed T_0 e allo specifico valore z indicati.
F_0	Tempo equivalente di sterilizzazione	Tempo equivalente di sterilizzazione riferito alla temperatura di 121.1 °C e z=10.
z	Coefficiente di temperatura	Numero di gradi di variazione della temperatura che produce una variazione del parametro D di 10 volte.
L	Rapporto di letalità	Valore dell'effetto letale di un minuto di permanenza ad altre temperature T, rispetto alla temperatura di riferimento T_0.
PNSU	Probabilità di unità non sterile	Numero che esprime la probabilità di trovare una unità non sterile tra un certo numero di unità costituenti il lotto di sterilizzazione.

Tabella 4.2 Formule di calcolo dell'effetto sterilizzante

Formule	**Definizioni**
$F=\Delta t\ \Sigma 10^{(T-T_0)/z}$	**Δt=** Intervallo di tempo tra due misurazioni della temperatura T del prodotto. **T_0=** Temperatura di riferimento: 121.1 °C, per la sterilizzazione a vapore. **$10^{(T-T0)/z}$ =** L = Rapporto di letalità.
$F_T^z = D_T^z\ (\log_{10} A - \log_{10} B)$	**A=** Numero di microrganismi contenuti in una unità prima della sterilizzazione. **B=** Numero di microrganismi contenuti in una unità sopravvissuti al trattamento termico di un dato numero di minuti a una determinata temperatura. **D=** Tempo di riduzione decimale dell'indicatore biologico.

PIATTI PRONTI A PROLUNGATA SHELF LIFE A TEMPERATURA AMBIENTE

La sperimentazione sui piatti pronti stabili a temperatura ambiente si è articolata in due attività principali:

- Prove preliminari in azienda per valutare i profili di temperatura e le curve di penetrazione del calore in un tunnel combinato microonde e vapore.
- Prove nel centro impianti pilota al fine di valutare l'effetto visibile di trattamenti di stabilizzazione termica classica, mediante autoclave di sterilizzazione, su piatti pronti confezionati in vuoto parziale.

Tali alimenti comprendevano:

- Riso e brodo di dado
- Riso con pollo e curry
- Spezzatino di pollo alla cacciatora
- Zuppa di pesce
- Farfalle al sugo
- Lasagne

Infine i risultati ottenuti su scala pilota sono stati trasferiti su scala industriale.

PARTE SPERIMENTALE.

Prove di riscaldamento con tunnel a Microonde-Vapore Saturo

Il tunnel di pastorizzazione-sterilizzazione univa una tecnologia di riscaldamento a microonde (primo tratto del tunnel) seguito da un tunnel di sterilizzazione mediante vapore. Il contributo al processo di stabilizzazione delle microonde, essendo il riscaldamento disuniforme nelle varie parti dell'alimento e dipendente dalla forma, dalle dimensioni e dalle proprietà dielettriche dell'alimento, nonché dalla frequenza dell'irradiazione, non potendo utilizzare le convenzionali sonde metalliche, può essere valutato con l'uso di indicatori enzimatici (Perossidasi) e microbici (es. *Geobacillus stearothermophilus*), usati come indice di trattamento.

Nelle prove effettuate in azienda sono state impiegate, per il rilevamento della temperatura, sonde Datatracer, poste in diversi punti della porzione di tunnel funzionante mediante vapore, questo nella prospettiva di un utilizzo della prima parte dell'impianto a microonde come

preriscaldamento dei prodotti. Sono stati ricavati i profili di temperatura (Fig. 4.3) all'interno del tunnel e le curve di penetrazione del calore (Fig. 4.4) di lasagne confezionate in azienda.

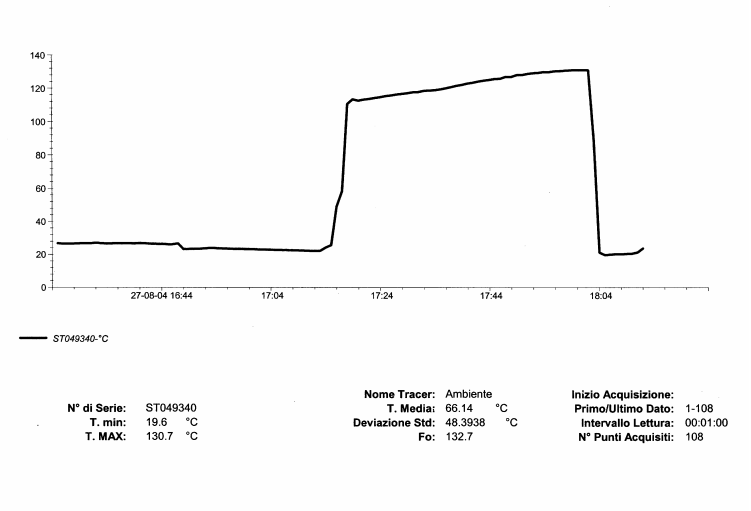


Figura 4.3 Profilo di temperatura all'interno del tunnel a vapore

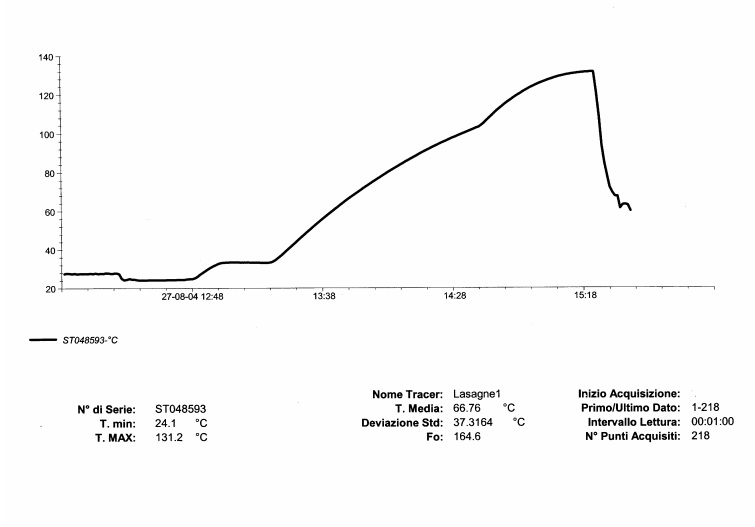
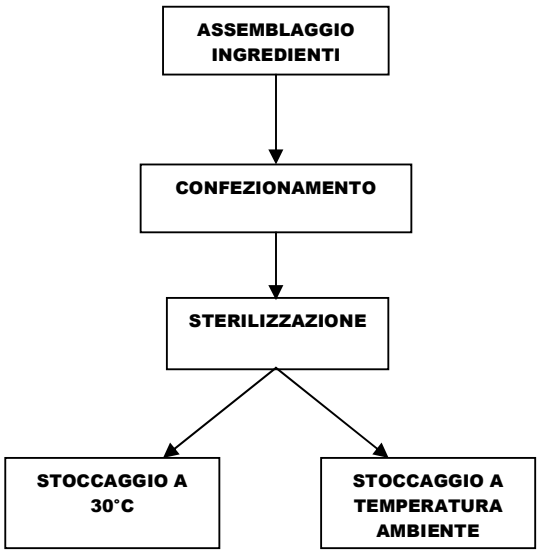


Figura 4.4 Curva di penetrazione del calore Lasagne

Prove in autoclave pilota

Il processo seguito è schematizzato nel seguente diagramma di flusso:



Tutti i prodotti, eccetto le farfalle al sugo, sono stati assemblati a crudo dalla ditta secondo la loro ricetta, confezionati in vaschette autoclavabili sotto vuoto parziale, e sterilizzati in una autoclave statica Pilota.

Figura 4.5 Autoclave statica orizzontale pilota

Le condizioni di confezionamento erano le seguenti:

Confezione: Vaschetta costituita da PP/EVOH/PP chiusa con FILM /PP/EVOH/PP/PET

Formato : 250 g

Condizioni di saldatura: temperatura 186°C, tempo 0.8 secondi, vuoto 400 mbar.

.

Per ciascun trattamento effettuato sono state costruite le curve di penetrazione del calore, monitorando il processo con termocoppie collegate all'autoclave di sterilizzazione e con un sistema Ellab CTF 9008, dopodiché gli alimenti sono stati posti in parte in termostato a 30°C e in parte a temperatura ambiente. L'effetto sterilizzante target (F_0 = 7) è stato deciso dall'azienda, anche se nella pratica industriale, per questa tipologia di prodotti, si applicano

valori di F_0 anche più elevati. Il valore indicato è stato stabilito per salvaguardare il più possibile le caratteristiche sensoriali dei diversi prodotti.

Prove preliminari con riso e brodo di dado

Preliminarmente alle prove sui piatti pronti sono state effettuate delle sterilizzazioni su vaschette confezionate con riso e brodo di dado, onde valutare la quantità di riso da usare nelle formulazioni e gli effetti del trattamento termico. Sono stati raggiunti $F_0 > 7$.
Dalle prove sono emerse le seguenti considerazioni:

Un riempimento eccessivo della confezione e un rapporto riso-brodo troppo basso portano all'impaccamento del prodotto e ad un effetto "timballo" (Figura 4.6).
La contropressione dell'autoclave è stata aumentata per ridurre l'effetto di delaminazione del film plastico sigillante le vaschette. Il grado di vuoto all'interno delle confezioni è stato ottimizzato.

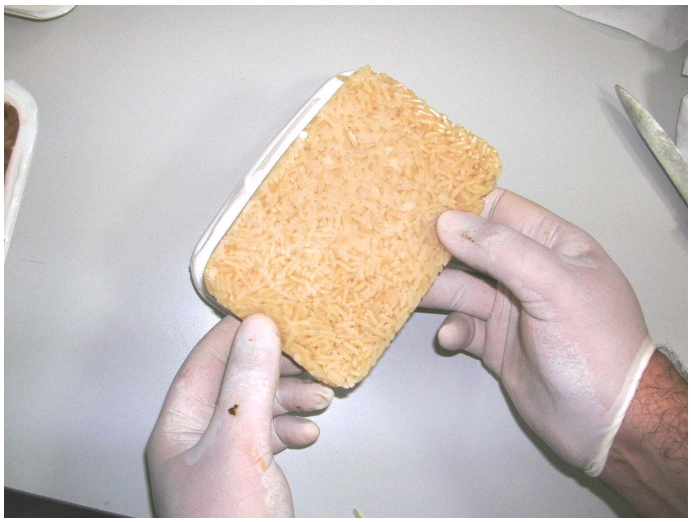


Fig. 4.6 Riso in brodo dopo il trattamento di sterilizzazione

Prove di trattamento dei singoli prodotti.

Riso con pollo e curry.

Ingredienti: riso, pollo, curry, olio di oliva, sale, spezie.

I parametri di sterilizzazione erano i seguenti:

- Temperatura di trattamento : 121°C
- F_0 target : 7
- F_0 effettivo: 7
- Tempo: 70 minuti
- Contropressione d'aria: 1.5 bar

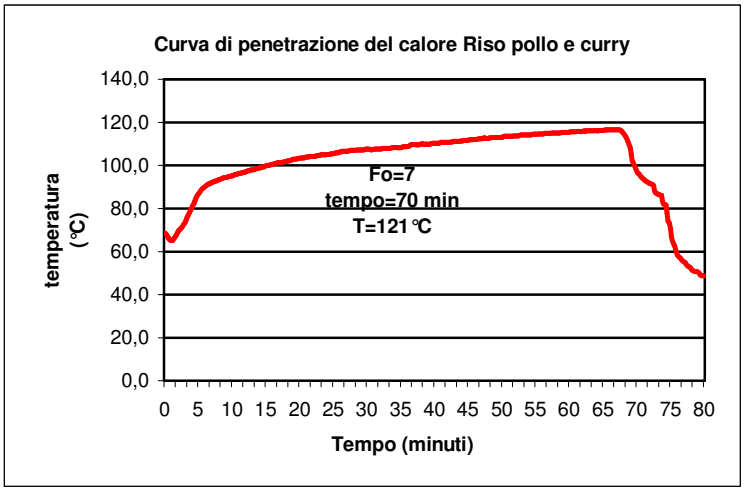


Figura 4.7 – Riso con pollo al curry, dopo 3 mesi in termostato a 30°C

L'effetto sterilizzante voluto è stato raggiunto in 70 minuti, preriscaldando il prodotto a T di circa 60°C. Alla valutazione sensoriale il prodotto risultava gradevole, con pezzi consistenti, ben cotti e sapidi.

Spezzatino di pollo alla cacciatora

Ingredienti: patate surgelate a spicchi, misto per soffritto surgelato, pollo marinato, salsa.

I parametri di sterilizzazione erano i seguenti:

Temperatura di trattamento : 121°C

F0 target : 7

F0 effettivo: 5,41

Tempo: 40 minuti

Contropressione d'aria: 1.5 bar

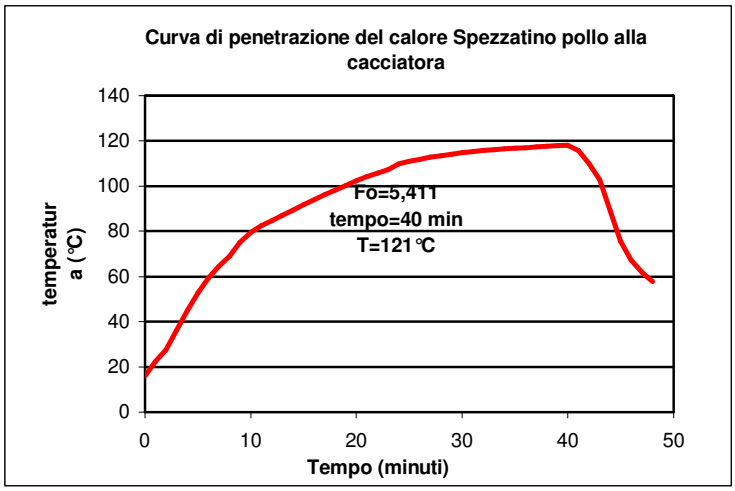


Figura 4.8 Spezzatino di Pollo con patate, dopo 4 mesi in termostato a 30°C

L'effetto sterilizzante ottenuto dopo 40 minuti (5,41) consente di ottenere un prodotto accettabile in termini di consistenza e caratteristiche sensoriali, ma occorre raggiungere un valore di F_0 più elevato (7 minimo).

Zuppa di pesce

Ingredienti: pesce surgelato pulito (moscardini, cozze, vongole, gamberetti, calamari, tranci di pesce a cubetti), polpa di pomodoro, acqua, aglio in polvere, vino bianco, prezzemolo fresco surgelato, peperoncino, olio.

I parametri di sterilizzazione erano i seguenti:

Temperatura di trattamento : 121°C

F0 target : 7

F0 effettivo: 4,41

Tempo: 32 minuti

Contropressione d'aria: 1.5 bar

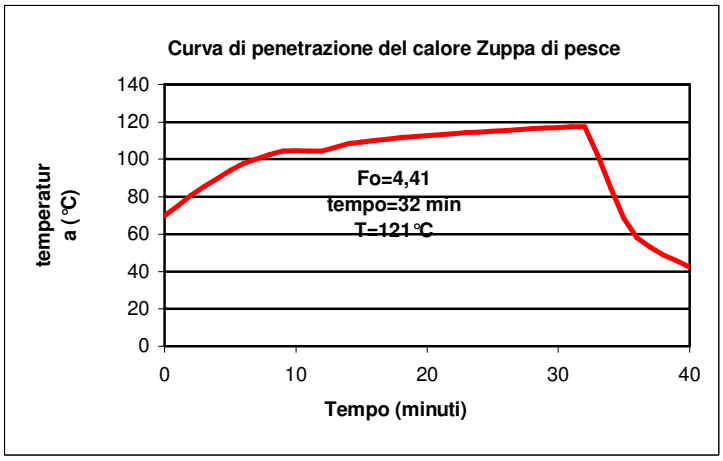


Figura 4.9 – Zuppa di pesce, dopo 4 mesi in termostato a 30°C

Di seguito si danno anche le elaborazioni delle curve di penetrazione del calore cambiando, rispettivamente, la temperatura iniziale (Temperatura ambiente, 40, 60, 80°C) con F>9, e temperatura di sterilizzazione (125°C), con F_0>50 .

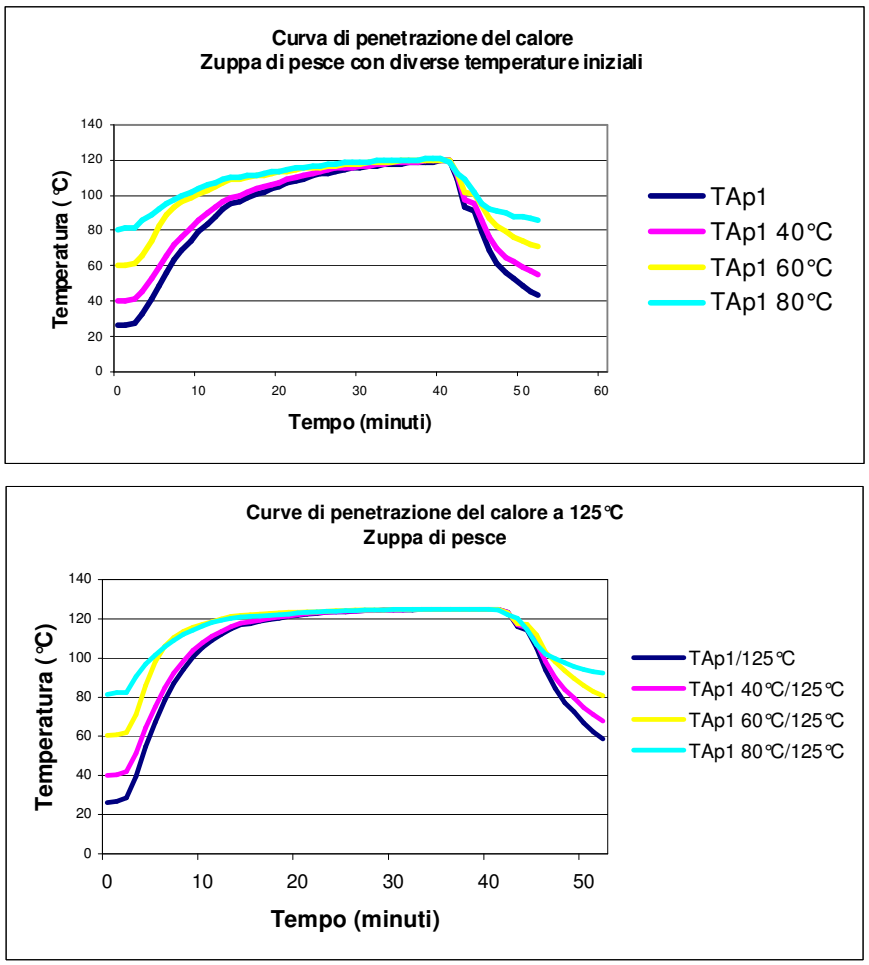


Figura 4.10 Simulazioni curve di penetrazione del calore

Dopo il trattamento di sterilizzazione, la zuppa di pesce si presentava " acquosa" ; l'aroma era complessivamente gradevole.

Farfalle al sugo

Ingredienti: farfalle, sugo (Olio di semi, cipolle, passata di pomodoro, basilico, sale).

I parametri di sterilizzazione erano i seguenti:

Temperatura di trattamento : 121°C

F0 target : 7

F0 effettivo: 15,43

Tempo: 41 minuti

Contropressione d'aria: 1.5 bar

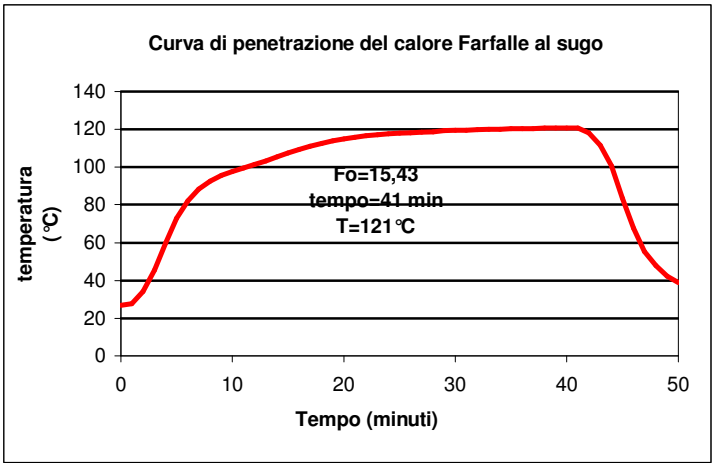


Figura 4.11 – Farfalle al sugo, dopo 4 mesi in termostato a 30°C

Il trattamento subìto era più che sufficiente a garantire la sterilità commerciale. La pasta risultava tuttavia impaccata e i pezzi incollati gli uni agli altri.

Lasagne

Ingredienti: sfoglia di semola di grano duro, carne bovina macinata, pomodoro, spezie, sale, besciamella, misto verdure per soffritto, olio extravergine d'oliva.

I parametri di sterilizzazione erano i seguenti:

Temperatura di trattamento: 121°C

F_0 target : 7

F_0 effettivo : 8

Tempo: 68 minuti

Contropressione d'aria: 1.5 bar

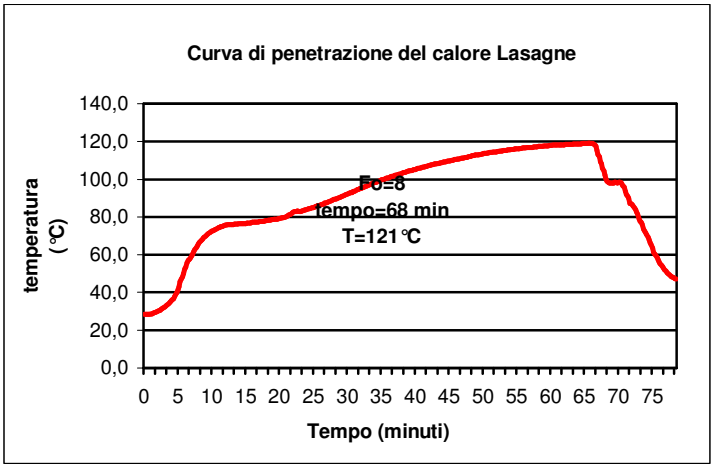


Figura 4.12 Lasagne, dopo 3 mesi in termostato a 30°C

Il trattamento sterilizzante risultava sufficiente, le caratteristiche sensoriali del prodotto sono state giudicate buone, anche se migliorabili.

DISCUSSIONE

Le prove effettuate in azienda e nel centro impianti pilota hanno dato indicazioni dell'effetto dei trattamenti di stabilizzazione applicati sui piatti pronti testati e del loro comportamento termico rispetto alla tecnologia impiegata.

In seguito alle prove, è stato deciso di introdurre dei cambiamenti nelle formulazioni di alcuni prodotti:

ZUPPA DI PESCE: Si è deciso di aumentare la concentrazione della salsa impiegando passata di pomodoro ed eventualmente concentrato di pomodoro.

PASTA: Si è stabilito di cuocere la pasta per un tempo inferiore lasciando invariata la composizione della salsa.

Nel corso delle prove è stato notato un effetto di delaminazione del film plastico di chiusura, effetto dovuto probabilmente ad una insufficiente contropressione applicata in fase di sterilizzazione, e che è stato ridotto aumentando la contropressione.

I dati ottenuti sull'impianto di sterilizzazione pilota sono stati riportati su scala industriale (autoclave statica), per queste e altre tipologie di piatti pronti.

Prove in autoclave industriale.

Sono state effettuate delle prove di sterilizzazione in azienda per verificare il comportamento termico dei piatti pronti sottoposti a sterilizzazione in vapor saturo, mediante trattamento in una autoclave statica orizzontale industriale (Levati). I risultati ottenuti su scala pilota sono applicabili direttamente in azienda. Sono state elaborate le curve di penetrazione del calore per diverse tipologie di prodotti, valutate le caratteristiche sensoriali e effettuati i test di stabilità a 30 gg. in termostato a 30°C.

Sono stati trattati i seguenti prodotti: riso al curry, paella, spezzatino di manzo, riso ai funghi, goulash, pollo alle mandorle.

Di seguito si danno le curve di penetrazione del calore e gli Fo relativi alle prove effettuate. Il processo è stato monitorato con uno strumento ELLAB CTF 9008.

Parametri di processo:

Fo target: 12

Temperatura di riferimento:121°C

Z=10

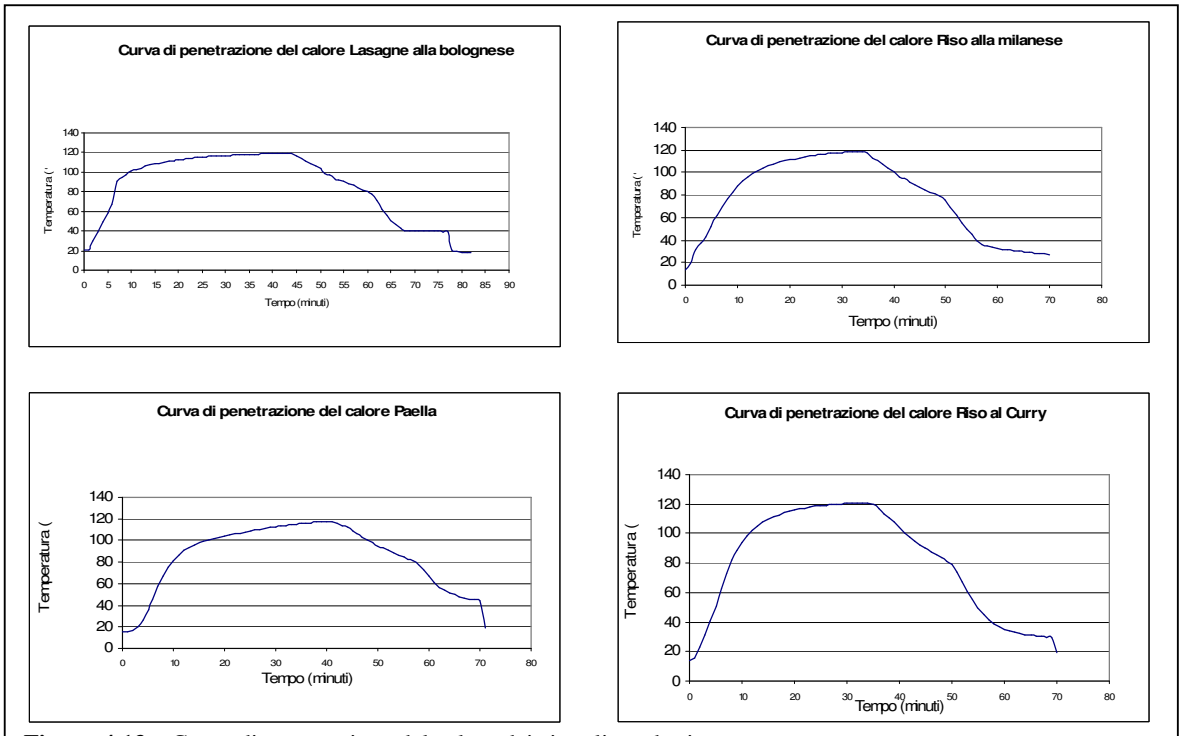


Figura 4.13 Curve di penetrazione del calore dei singoli prodotti

Tutti i prodotti all'assaggio risultavano gradevoli; è stata verificata la stabilità microbiologica mediante stoccaggio in termostato a 30°C per 30 gg. Nessun prodotto presentava segni di alterazione.

CONCLUSIONI

Il lavoro svolto ha permesso di stabilire il comportamento termico di piatti pronti *shelf-stable* sottoposti a sterilizzazione mediante vapore in autoclave pilota. I risultati ottenuti sono immediatamente riportabili su scala aziendale. In generale, la tecnologia appare adatta a questo tipo di alimenti, che sopportano abbastanza bene il trattamento termico, consentendo di ottenere la sterilità commerciale in tempi ragionevoli. Ciò a permesso di ottenere piatti pronti microbiologicamente stabili indefinitamente, a temperatura ambiente. La *shelf-life* commerciale di tali preparazioni può tranquillamente essere di almeno 6 mesi. Tempi più prolungati comportano un inevitabile scadimento del prodotto dal punto di vista sensoriale.

CONSERVE VEGATALI SOTT'OLIO

L'obiettivo della sperimentazione era quello di mettere a punto la tecnologia di trasformazione e conservazione di conserve vegetali sott'olio (acidificate e pastorizzate) confezionate in vasetti di vetro, con l'obiettivo di porre sul mercato prodotti sicuri dal punto di vista igenico-sanitario. Pertanto si è scelto un prodotto tipo (carciofini sott'olio) ed effettuate delle prove di lavorazione in azienda secondo la tecnologia adottata dal produttore. Il trattamento di pastorizzazione è stato monitorato con un sistema Ellab CTF 9008. Apportate le opportune modifiche al processo di trasformazione si è proceduti ad una nuova prova.

PARTE SPERIMENTALE

Materia prima: capolini di carciofo var. Spinoso Sardo, non calibrati (Figura 4.14).

Figura 4.14 Capolini di carciofo Spinoso Sardo

1. Tornitura manuale fino ad ottenere cuori di carciofo;
2. Immersione in soluzione acquosa con succo di limone e acido citrico a temp. amb.;
3. Sbiancatura in soluzione di acqua, aceto e acido citrico (pH 2.67), per circa 1 min. dall'inizio dell'ebollizione.
4. Scottatura in soluzione di acqua, aceto, vino e sale (2-3%) (pH 2.97), per 2 min. dall'inizio dell'ebollizione;
5. Raffreddamento dei capolini su teli;
6. Invasettamento con aggiunta d'aromi e d'olio (extravergine d'oliva e semi) a freddo;

7. Pastorizzazione, partendo da acqua a temperatura ambiente riscaldata sino all'ebollizione (vasetti da 3.14: 20 min. dall'inizio dell' ebollizione; vasi da 1,7 Kg: 35 min. dall'inizio dell' ebollizione).

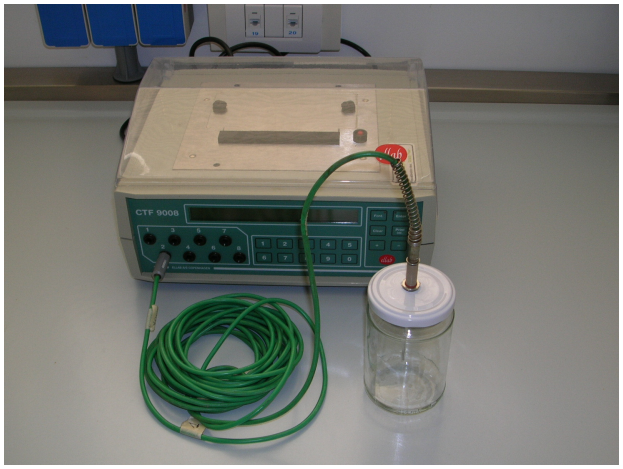


Figura 4.15 Termometro con termocoppia

Quest'ultima operazione è stata effettuata monitorando il processo con lo strumento Ellab CTF 9008, fino al raggiungimento di un effetto sterilizzante F 71, z 10, di 30 minuti.

E' stato misurato anche il pH dei carciofini invasettati da un anno (pH 4.10) e prima della pastorizzazione (pH 4.23). Esso era sufficientemente basso per prevenire lo sviluppo di batteri patogeni (*C.Botulinum*).

Sulla tecnologia adottata in azienda sono state fatte le seguenti osservazioni:

- E' necessario disporre di strumenti per la misurazione e la verifica dei parametri di processo, quali pHmetro e termometro;
- E' buona norma effettuare l'invasettamento con olio caldo (80°C), per allontanare l'aria dal vasetto e prevenire l'irrancidimento;
- La pastorizzazione deve essere condotta ponendo direttamente i vasetti in acqua a 100°C, in modo tale da ridurre così il salto termico. Ciò accelererebbe l'operazione, con conseguente risparmio d'energia e di tempo;
- Le operazioni di sbiancatura e scottatura possono essere effettuate con un unico trattamento, con risparmio di tempo ed energia.
- Per facilitare le operazioni di lavorazione, è consigliabile avere un sistema di carico e scarico dei vasetti dai bagnomaria di trattamento, ad esempio un argano manuale dotato di cestello di carico.

Apportate le modifiche è stata effettuata un'altra prova di lavorazione, tenendo sotto controllo il processo.

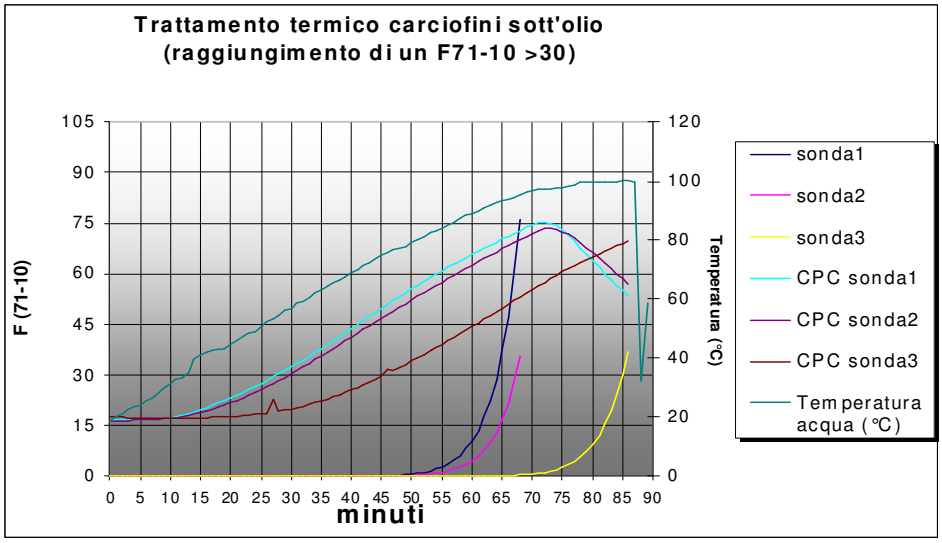


Figura 4.16 Curve di penetrazione del calore registrate durante la lavorazione

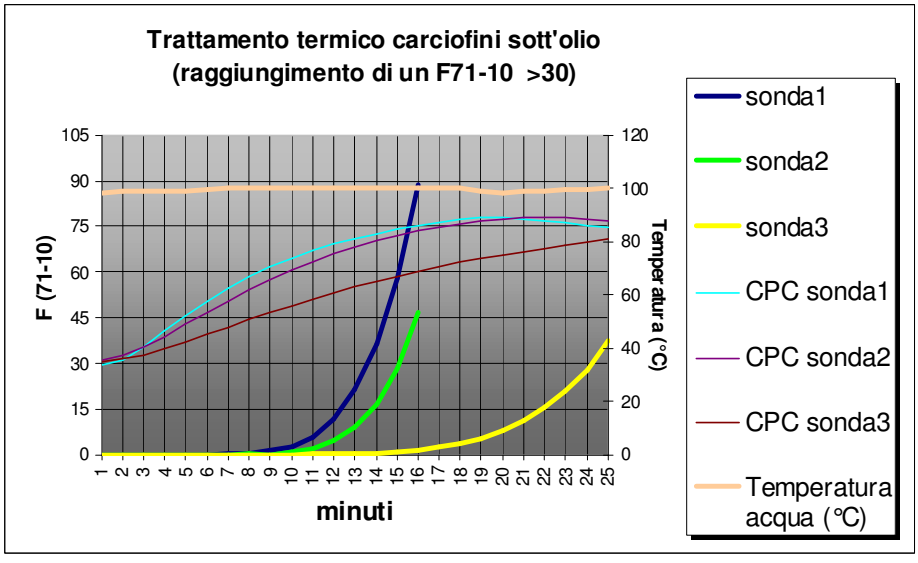


Figura 4.17 Curve di penetrazione del calore registrate dopo le modifiche alla tecnologia adottata

CONCLUSIONI

Pastorizzando i vasetti direttamente in acqua a 100°C è stato ottenuto lo stesso effetto sterilizzante con un risparmio di 50 minuti per i vasetti da 3.14 e di 60 minuti per i vasi da 1.7 Kg. I campioni del prodotto sono stati portati in laboratorio e incubati a 30°C.

Di questi è stata verificata la stabilità dopo 15 e 30 gg. Non c'era segno di alterazione sui campioni trattati.

Bibliografia

1. Downing D.L., "A complete Course in Canning and related processes" Thirteenth Edition,CTI Publications Inc., Baltimore, 1996.
2. Larousse J. "La Conserve Appertisée", Lavoisier Tecnique et Documentation , Paris, 1991.
3. Miglioli L. , Pedrelli T., Quintavalla S., "Corso sulla sterilizzazione termica dei prodotti alimentari", Parma 1989.
4. Larousse J., B.E. Brown, "Food Canning Technology", Wiley VCN, 1997.
5. Mathlouthy M. , "Emballage et conservation des produits alimentaires", Polytecnicha, Paris, 1996.
6. Oliveira F.A.R., Oliveira Jorge C., "Processing Foods", CRC Press, London, 1999

GRUPPO DI LAVORO

Responsabili Scientifici: Tonina Roggio, Efisio A. Scano, Pascquale Catzeddu

Il Gruppo di ricerca: Marco Campus, Roberto Cappuccinelli, Maria Cristina Porcu, Nicola Secchi, Giuseppe Stara